

На правах рукописи

АХМЕТОВА ЛИЛИЯ ТИМЕРХАНОВНА

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ
ПРОДУКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА: БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
И НОВЫЕ ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ**

03.01.04 - биохимия

03.03.01 - физиология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Казань -2013

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Казанский национальный
исследовательский технологический университет»
г. Казань, Республика Татарстан

- Научные консультанты:** Действ.член АН РТ, доктор
биологических наук, профессор
Ильинская Ольга Николаевна;

доктор химических наук, профессор
Гармонов Сергей Юрьевич
- Официальные оппоненты:** доктор химических наук, профессор,
зав. лабораторией инженерии ферментов,
Центра биоинженерии РАН
Варламов Валерий Петрович (*г. Москва*);

доктор медицинских наук, профессор,
зав. кафедрой биохимии Казанского
государственного медицинского университета
Мустафин Ильшат Ганиевич (*г.Казань*);

доктор биологических наук, доцент кафедры
биологической и неорганической химии,
ФГБАУ ВПО "Казанская государственная
академия ветеринарной медицины"
Логинов Георгий Павлович (*г.Казань*)
- Ведущая организация** ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы
народов», г.Москва

Защита диссертации состоится «12» декабря 2013г. в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 212.081.08 при Казанском (Приволжском) федеральном университете по адресу: 420008 г. Казань, ул. Кремлевская, 18, КФУ, главный корпус, ауд.211.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. Н.И.Лобачевского при Казанском (Приволжском) федеральном университете.

Автореферат разослан «__» ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор

З.И.Абрамова

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Устойчивость живого организма к различным неблагоприятным факторам внешней среды в период роста, развития и адаптации во многом определяется складывающимся на данный период его жизни оптимальными концентрациями микронутриентов в клетках, тканях и органах, способствующих полной реализации физиологических и биохимических процессов. Представление о том, что питание является важнейшим ключевым фактором здоровья, работоспособности и активного долголетия человека получило всеобщее признание и на протяжении длительного времени приоритетом рационального питания было обеспечение потребностей организма в энергии и макронутриентах. Однако, последние десятилетия показали отсутствие прогресса в увеличении продолжительности жизни населения индустриально развитых стран и рост сердечно-сосудистой заболеваний, эндокринной и онкологической патологии, ожирений и метаболического синдрома, болезней обмена веществ. Недостаточное потребление микронутриентов (витаминов, аминокислот, микроэлементов) является массовым и постоянно действующим фактором, отрицательно влияющим на здоровье, рост, развитие и жизнедеятельность всей нации (В. А. Тутельян, В. Б. Спиричев и др., 2002; В. А. Тутельян, Н. В. Лашнева, 2009.).

На сегодняшний день кризисная ситуация в питании населения развитых стран, в том числе и в России, заключается в том, что современный человек с обычным рационом не может получить микронутриенты в необходимом количестве. Поэтому формула пищи 21 века-постоянное использование в рационе питания человека функциональных продуктов питания с заданными свойствами и биологически активных добавок к пище (Гольберг, Дондуковская, 2007).

В развитие этого направления Указом Президента Российской Федерации от 30 января 2010 года №120 утверждена Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации, распоряжением Правительства РФ от 25 октября 2010 года №1873-р утверждены «Основы государственной политики Российской Федерации в области здорового питания населения на период до 2020 года», приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 02.08.2010 г. №593н утверждены рекомендуемые нормы потребления пищевых продуктов, отвечающие современным требованиям здорового питания.

Целями государственной политики в области здорового питания является сохранение и укрепление здоровья населения, профилактика заболеваний, обусловленных неполноценным и несбалансированным питанием. Среди основных задач государственной политики в области здорового питания указывается развитие производства пищевых продуктов, обогащенных незаменимыми компонентами, продуктов функционального назначения и биологически активных добавок к пище, в том числе для питания в организованных коллективах (трудовые, образовательные и др.).

Нутрициологический фактор также оказывает влияние на становление физиологического, биохимического и иммунологического статуса у сельскохозяйственных животных, в частности у птицы, в условиях интенсивных

технологий выращивания (Herbst et al., 1992; Байматов, 1993; Ganolio et al., 1993; Flisiak, 1997; Кузнецов с соавт., 2001; Степановский, 2001; Максимов, 2001; Лемешева, 2006; Фисинин, 2006, 2007, 2010; Архипов, 2007; Василевич, 2009). В связи с этим большое значение уделяется совершенствованию норм кормления, сбалансированию рационов, поиску недорогих и легкоусвояемых природных кормовых добавок, оказывающих положительное влияние не только на организм птицы, но и опосредованно на здоровье человека при употреблении мясной и яичной продукции.

Существенным негативным фактором, воздействующим на здоровье населения, является экологическое неблагополучие. В последние годы происходящее в биосфере прогрессивное накопление химических соединений антропогенного происхождения не только вызывает нарушение гомеостаза организма, но и индуцирует генные, хромосомные и геномные мутации, обладая высокой специфичностью действия (Болтина, 2009), что создает повышенную нагрузку на защитные функции организма. Морфофункциональная основа восприимчивости живого организма к различным патологическим воздействиям определяется состоянием иммунной системы, которая в свою очередь в значительной степени зависит от сбалансированного поступления в организм витаминов, микро- и макроэлементов, аминокислот (Идрисов, 1998; Жаров, Шишков, 1998; Молянова, 2011; Протасов, Комиссаров, 2012). В настоящее время у большей части населения развитых стран выявляются симптомы недостаточной адаптации – «маладаптации» (Маймулов, 2003) - снижение неспецифической резистентности к неблагоприятным факторам окружающей среды физической, химической или биологической природы, иммунодефицита и др.

Таким образом, одним из наиболее перспективных направлений современной биологической и смежной с ней отраслей наук является поиск и исследование природных объектов, обладающих комплексными антитоксическими, радиопротекторными, генопротекторными, адаптогенными, иммуномодулирующими, антиоксидантными и антимутагенными свойствами и способных обеспечить физиологическое и биохимическое равновесие организма человека и животных.

В соответствии с вышеизложенным были определены цель и задачи настоящего исследования.

Цель работы. Анализ показателей физиолого-биохимических процессов, происходящих в организме человека и животных в результате применения разработанных на основе продуктов пчеловодства биологически активных субстанций и целевых продуктов для обоснования их использования в птицеводстве и оздоровительных программах.

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Провести анализ химического, аминокислотного и витаминного состава биологически активных комплексов, полученных из продуктов пчеловодства в результате технологической переработки.

2. Определить генотоксические и антимутагенные эффекты биологически активных комплексов на основе перги в бактериальных тест-системах (тест Эймса, SOS-хромотест).

3. Провести комплекс токсикологических исследований целевых продуктов на лабораторных животных.

4. Изучить физиолого-биохимическое воздействие кормовых добавок на организм птицы в лабораторных и промышленных условиях.

5. Выявить влияние биокомплексов на основе продуктов пчеловодства на показатели физиолого-биохимических процессов в организме человека.

6. Обосновать возможность использования целевых продуктов в птицеводстве и оздоровительных технологиях.

Научная новизна работы.

Разработан комплексный подход к исследованию биохимических свойств и технологии продуктов пчеловодства, как потенциальных сырьевых источников для получения инновационных биологически активных комплексов – лекарственных препаратов, биологически активных добавок к пище, кормовых добавок и их воздействия на физиолого-биохимические процессы организма человека и животных.

Впервые установлены десмутагенные, биоантимутагенные и биостимулирующие свойства биокомплекса на основе перги в области исследуемых концентраций 1-100 мкг/мл в бактериальных тест-системах на штаммах *Salmonella typhimurium* TA100 и *Escherichia coli* PQ37.

Впервые изучено влияние кормовых добавок на основе продуктов пчеловодства на организм лабораторных животных и птицы. Установлено, что они не обладают местно-раздражающим, аллергезирующим, эмбриотоксическим, тератогенным действием, стимулируют обмен веществ, повышают естественную резистентность, иммунную реактивность, рост и продуктивность птицы как яичного, так и мясного направления, а также улучшают качество продукции.

Проведен комплекс исследований влияния целевых продуктов на физиолого-биохимические процессы организма человека. Установлено, что биокомплекс на основе перги является индуктором фермента N-ацетилтрансферазы, способствуя процессу ацетилирования; обладает гемопозитической активностью, что указывает на иммуномодулирующий и антианемический эффект; позволяет нивелировать негативное влияние шума на антиоксидантную систему организма человека.

Показано, что биокомплексы на основе перги улучшают функциональную активность центральной нервной системы детей, повышают показатели физической работоспособности подростков, оптимизируют энергетический обмен во время интенсивных физических нагрузок у юных спортсменов.

Разработаны и оптимизированы технологии переработки маловостребованных сырьевых источников пчеловодства и получения биологически активных субстанций и целевых продуктов на их основе.

Научная новизна и приоритет разработок диссертации отражены в публикациях ведущих рецензируемых журналов, аккредитованных ВАК и защищены 15 охраноспособными документами Российской Федерации.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты проведенных исследований существенно повышают уровень знаний о составе, свойствах биологически активных комплексов на основе продуктов пчеловодства, влияния на организм животных и человека и позволяют эффективно

использовать полученные данные в научно-практической деятельности в таких областях, как животноводство и медицина, а также в питании людей.

Установлено, что разработанные целевые продукты относятся к нетоксичным веществам. Определены их антибиомутагенные и десмутагенные свойства. Совокупность этих данных открывает очевидную перспективу использования биоккомплексов для профилактики индуцированного мутагенеза у человека и животных и позволяет рассматривать их в качестве антигенотоксических и генопротекторных препаратов.

Полученные данные при включении кормовых добавок в состав корма птицы свидетельствуют об улучшении обменных процессов и показателей естественной резистентности и иммунной реактивности, а также увеличении среднесуточного прироста биомассы цыплят и повышения качества продукции.

Установлено, что кормовые добавки повышают бактерицидную активность кожи, лизоцимную активность, функциональную активность нейтрофилов, улучшают морфобioхимический состав крови кур и индеек по количественным показателям гемоглобина, общего белка, глюкозы, каротина, кальция и фосфора, а также способствует у кроссов яичного направления ускорению начала яйцекладки, увеличению яйценоскости, повышению выхода яйцемассы при снижении затрат корма на один килограмм яйцемассы.

Показано, что биоккомплекс на основе перги обладает высокой индукционной активностью и способствует процессу ацетилирования, в силу чего может использоваться как детоксикационное средство.

Установлено, что биоккомплекс на основе перги позволяет снизить негативное влияние шума на антиоксидантную систему организма человека и может быть рекомендовано для профилактики на промышленных предприятиях и в быту.

Анализ иммунологических исследований у часто болеющих детей, проживающих в экологически неблагоприятных районах, при приеме лекарственного препарата на основе перги показал повышение неспецифического местного и общего иммунитета, что подтверждается показателями колонизационной резистентности, концентрации лизоцима, секреторного иммуноглобулина А, люминолзависимой хемилюминесценции. Биоккомплекс на основе перги обладает гемопозитической активностью, что подтверждается ростом гемоглобина и сывороточного железа, что указывает на иммуномодулирующий и антианемический эффект.

Биоккомплексы на основе перги положительно влияют на функциональную активность центральной нервной системы детей, повышают показатели физической работоспособности подростков, оптимизируют энергетический обмен, ускоряют восстановительные процессы в организме спортсменов. Происходит снижение уровня лактата, повышение уровня гемоглобина в крови и доли аэробной производительности в восстановительном периоде. Полученные результаты могут быть использованы в процессе подготовки спортсменов для достижения высоких спортивных результатов.

Разработаны фармацевтические статьи и комплекс научно-технической документации на биологически активные субстанции и целевые продукты на их основе. Разработана методика определения 10 водорастворимых витаминов, а также

жирорастворимых витаминов в сложных по составу природных объектах.

Разработанные и оптимизированные технологии, внедренные на ЗАО РНПЦ «Семруг», ООО «АНТ» (Республика Татарстан), ООО «В-мин» (Московская область) по переработке продуктов пчеловодства – перги и мервы и получению биокомплексов на их основе позволяют сохранить первоначальные свойства сырья и обеспечить микробиологическую и химическую безопасность целевых продуктов.

Целевые продукты «Винибис», «Винибис С» используются в оздоровительных технологиях учащихся учреждений начального и профессионального образования и юных спортсменов спортивных учреждений Республики Татарстан.

Кормовая добавка «Винивет» внедрена в рационы кормов птицефабрик КФК «Юдинский», КФК «Марс», ОАО «Ак Барс Пестрецы» (Республика Татарстан), ФГУП ППЗ СГЦ «Смена» Россельхозакадемии (Московская область), фермерских хозяйствах (Республика Татарстан и Чувашия).

Положения, выносимые на защиту:

1. Потенциал сырьевого рынка и химический состав маловостребованных продуктов пчеловодства - перги и мервы в Российской Федерации, определяют возможность их промышленного использования с целью обеспечения населения жизненно важными микронутриентами в промышленном масштабе.

2. Разработанные технологии получения целевых продуктов на основе перги и мервы позволяют обеспечить безопасность и сохранить весь комплекс водо- и жирорастворимых витаминов, аминокислот и микроэлементов.

3. Полученные биокомплексы не токсичны, обладают десмутагенными, биоантимутагенными, биостимулирующими, антиоксидантными свойствами, способствуют улучшению метаболических процессов в организме человека и животных.

4. Кормовая добавка на основе продуктов пчеловодства оказывает выраженное положительное влияние на морфологический и биохимический состав крови, повышает естественную резистентность и иммунологическую реактивность организма птицы и может быть использована в кормлении сельскохозяйственной птицы в промышленных условиях для улучшения качества яичной и мясной продукции.

5. Использование биокомплексов на основе перги у детей и подростков оказывает иммуномодулирующий и гемопозитический эффект, улучшает функциональную активность ЦНС, повышает показатели физической работоспособности и энергетического обмена, ускоряет процесс восстановления и могут применяться в оздоровительных программах для детей, подростков и спортсменов.

Апробация работы. Результаты работы и основные положения диссертации были доложены и обсуждены на IX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2002); региональном научно-практическом семинаре «Предупреждение наркомании: социальная стратегия, тактика и опыт организации» (Казань, 2003); V Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2004); Международной конференции «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания.

Современное состояние и перспективы» (Москва, 2004); IX Конгрессе педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2004); II международной конференции «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы» (Минск, 2004); XI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2004); 16th International Congress of Chemical Engineering CHISA-2004 (Czech Republic, Praha, 2004); 13th annual Symposium for biology students of Europe "SymBioSE 2009" "Biology: Expansion of Borders" (Kazan, 2009); 19th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA-2010 (Czech Republic, Praga, 2010); XI Всероссийском конгрессе диетологов и нутрициологов «Питание и здоровье» (Москва, 2009); Международном научно-техническом семинаре «Актуальные проблемы сушки и термовлажностной обработки материалов» (Воронеж, 2010); Международном симпозиуме некоммерческого партнерства институтов РАН «Орхимед»: «Разработка лекарственных и физиологически активных соединений на основе природных веществ» (Санкт-Петербург, 2010); XII Всероссийском конгрессе диетологов и нутрициологов с международным участием "Питание и здоровье" (Москва, 2010); II Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2010); II Международной научно-технической конференции «Новое в технологии и технике пищевых производств» (Воронеж, 2010); Всероссийской конференции для молодежи «Актуальные проблемы органической химии» (Казань, 2010); Всероссийской химической конференции "Бутлеровское наследие-2011" (Казань, 2011); I Всероссийском конгрессе с международным участием «Медицина для спорта» (Москва, 2011); 66 конференции по фармации и фармакологии "Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции" (Пятигорск, 2011); III региональной научно-практической конференции с международным участием «Синтез и перспективы использования биологически активных соединений» (Казань, 2011); II Всероссийской научно-практической конференции "Спортивная медицина. Здоровье и физическая культура" (Сочи, 2011); 8th International Conference "Sport and quality of life 2011" (Czech Republic, Brno, 2011); научно-практической конференции с международным участием "Фармакотерапия и диетология в педиатрии" (Казань, 2011); Ith European Congress of Applied Biotechnology ECAB (Germany, Berlin, 2011); 5th International Conference on Food Factors "ICoFF 2011" (Taipei, Taiwan, 2011); Всероссийской конференции «Современные проблемы спортивной медицины и реабилитации в спорте» (Москва, 2011); XXXXIIth International Congress "Apimondia-2011" (Argentina, Buenos-Aires, 2011); IV Съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (Москва, 2012); 20 th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA-2012 (Czech Republic, Praga, 2012); XV Юбилейной Всероссийской медико-биологической конференции "Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье" (Санкт-Петербург, 2012); XIII Украинской конференции с международным участием «Актуальные проблемы современного птицеводства» (Украина, Алушта, 2012).

Личный вклад автора состоит в выборе научного направления, постановке цели и задач исследований, выборе объектов и методов исследований, непосредственном участии в проведении основных экспериментов, разработке

технологий переработки природных источников и получения готовых продуктов, формулировании научных положений и выводов, систематизации и интерпретации полученных результатов. Работа по изучению влияния кормовой добавки Винивет на зоотехнические параметры птицы кроссов «Радонеж», «Кобб Авиан 48» и «Хаббард» проводилась совместно с ведущим научным сотрудником ВНИТИП, к.с.-х.н. Андриановой Е.Н. Забор крови и биохимические анализы проводились сотрудниками Казанской академии ветеринарной медицины им. Н.Э.Баумана при непосредственном участии автора. Автором обосновано перспективное направление рационального использования вторичных природных ресурсов.

Связь работы с научными программами.

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО КНИТУ в соответствии с «Приоритетными направлениями развития науки, технологий и техники в РФ», созданием технологий по теме «Биомедицинские и ветеринарные технологии жизнеобеспечения и защиты человека и животных» и научному направлению «Биологически активные вещества различной этиологии для производства функциональных биологически активных добавок к пище, лекарственных средств и кормовых добавок» (Пр. № 245-0 от 02.12.05 по Казанскому национальному исследовательскому технологическому университету).

Часть экспериментальной работы выполнена в рамках НОЦ РОКС между ФГБАУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» и КНЦ РАН при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение № 8048.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 77 печатных работ, в том числе 21 статья в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 15 патентов Российской Федерации на изобретения и полезные модели, 1 методические рекомендации по гигиене питания, 40 публикаций по материалам конференций.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертация изложена на 345 страницах компьютерного текста и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение результатов исследования, выводы, список использованной литературы, включающего 347 источников, в том числе 90 иностранных, и приложения. Диссертация иллюстрирована 63 таблицами, 48 рисунками. Прилагаются документы, подтверждающие научно-практическую значимость работы.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась с 1993 по 2013 гг. на кафедре аналитической химии, сертификации и менеджмента качества ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет». Отдельные результаты получены на кафедрах микробиологии ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедры гигиены питания и кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», кафедры биологической и неорганической химии ФГБОУ ВПО «Казанская государственная академия



Внедрение результатов научных исследований

Учебный процесс	Производственная деятельность	Оздоровительные Технологии
КНИТУ, КФУ, КГАВМ, КГМУ	ЗАО «РНПЦ «Семруг», ООО «АНТ», ООО «В-мин», ООО «Смена» РАСХН, ПФК «Юдинский»	Школьники, учащиеся УНПО, спортсмены, призывники

Рисунок 1. Схема исследований

ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Бременского института аналитики (Германия), испытательной лаборатории Казанского ипподрома; в училище олимпийского резерва, Центре спортивной подготовки (г.Казань); на производственных базах ЗАО «Республиканский научно-производственный центр «Семруг», ООО «АНТ», Всероссийского Научно-исследовательского и технологического института птицеводства РАСХН, индейководческого КФХ «Марс», птицефабрик «Ак Барс –Холдинг Пестрецы», ООО Племенной птицеводческий репродуктор «Юдинский» (Республика Татарстан), ФГУП Племенной птицеводческий завод СГЦ «Смена» Россельхозакадемии (Московская область) и др.

Для решения задач была определена схема исследования, очертившая предмет, а также методы исследований данной работы (рис.1).

2.1.Определение составов биологически активных субстанций и целевых продуктов

Для определения химического и аминокислотного состава субстанций и целевых продуктов применяли жидкостные хроматографы: LC-20 фирмы "Schimadzu" (Япония) с диодно-матричным и флуоресцентным детекторами; SERIES 200 фирмы Perkin Elmer (США) с УФ детектором, а также спектрофотометр SPECORD 40 (AnalytikJena, Германия), рН-метр 211 (Hanna, Румыния), центрифугу Minispin Plus (Eppendorf, Германия), ультразвуковую ванну L-0,16/18 (Россия), установку для получения сверхчистой воды Simplicity Millipor (Франция). Для определения аминокислотного состава использовали метод ВЭЖХ при детектировании их нингидриновых производных. Микроэлементный и липидный состав оценивался по стандартным методикам.

В качестве стандартов определяемых веществ использовались стандартные образцы (Fluka и Sigma), а для приготовления элюентов использовались ацетонитрил для хроматографии ос.ч. сорт 0 (Криохром, Санкт-Петербург), ацетонитрил "Labscan" марки Ultra Gradient (Ирландия) и сверхчистая вода, полученная на установке MilliporWaters (США) из бидистилированной воды. Пробоподготовку проводили по стандартным методикам.

При исследовании химического состава кормовой добавки использовали следующие методы: сырой протеин определялся по азоту – перегонкой по Кьелдалю, влага и сухой остаток путем высушивания и взвешивания образцов.

Определение массовой доли отдельных химических элементов в составе кормовой добавки Винивет проводилось методом атомно-абсорбционной спектроскопии (Л.В. Антонова с соавт., 2004). Пробы готовились способом сухой микролизаии. Общее количество органических веществ в пробах устанавливали по разнице исходной сухой массы и золы после минерализации.

2.2.Определение токсических и мутагенных эффектов биоконплексов на основе перги

2.2.1. Характеристика тестерных штаммов

При изучении токсических и мутагенных эффектов исследуемых образцов в бактериальных тест-системах использовали следующие бактериальные штаммы (табл. 1).

Таблица 1.

Тестерные штаммы бактерий

№	Штамм	Генотип	Источник
1.	<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100	<i>his G46, rfa, uvr, bio, pkm 101</i>	НИИ по БИХС, г. Купавна
2.	<i>Escherichia coli</i> PQ37	<i>sfi A: :mud (Ap lac) cts, lac A U169, mal+, uvr A, gal Y, pho C, rfa</i>	Институт общей генетики, г. Москва
3.	<i>Micrococcus luteus</i>	дикий тип	Коллекция кафедры микробиологии КФУ, г. Казань
4.	<i>Escherichia coli</i> WP2	<i>trpE65</i>	НИИ экологии микроорганизмов УНЦ РАН, г. Пермь
5.	<i>Escherichia coli</i> polA	<i>trpE65, sul, malB, polA</i>	НИИ экологии микроорганизмов УНЦ РАН, г. Пермь
6.	<i>Escherichia coli</i> uvrA	<i>trpE65, sul, uvrA155</i>	НИИ экологии микроорганизмов УНЦ РАН, г. Пермь
7.	<i>Escherichia coli</i> recA	<i>trpE65, recA</i>	НИИ экологии микроорганизмов УНЦ РАН, г. Пермь

2.2.2. Биологические объекты**Приготовление образцов биоконкомплекса на основе перги**

Образцы биоконкомплекса на основе перги разводили в стерильной дистиллированной воде в концентрациях 1; 10; 100; 1000 мкг/мл.

2.2.3. Бактериальные тест-системы для определения токсических и мутагенных эффектов биоконкомплекса на основе перги**2.2.3.1. Тест на токсичность по отношению к грамотрицательным и грамположительным микроорганизмам**

Сила токсического действия исследуемого биоконкомплекса определялась по выживаемости тестерных штаммов - *Salmonella typhimurium* TA 100 и *Micrococcus luteus*. Опыт проводили в 3-х повторях. Согласно рекомендациям (Дурнев с соавт., 2003) максимальная доза исследуемых соединений не должна подавлять рост тестерных бактерий более чем на 50%.

2.2.3.2. Полуколичественный метод учета генных мутаций (тест Эймса)

Тестерные штаммы бактерий *S.typhimurium* культивируют на специальной среде, на которой могут расти лишь мутанты этих штаммов, у которых произошла мутация от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. Без внешних воздействий такие мутации происходят с низкой частотой. Если в среду культивирования ввести химический мутаген, то частота мутаций значительно увеличивается, что регистрируется по числу колоний. Учет результатов проводили по индукции обратных мутаций к гистидиновой прототрофности через 48 часов инкубации (Maron, Ames, 1983). С целью исключения артефактов в тесте Эймса количественное содержание гистидина в образцах определяли по методу (Ильинская с соавт., 2001).

2.2.3.3. SOS-хромотест

SOS-хромотест позволяет оценить ДНК-повреждающую активность вещества и вклад ошибочной репарации в общий мутагенез. Проведение эксперимента и приготовление сред вели по методике, описанной в работе Миллера (Миллер, 1976) и Килардье (Quillardet *et al.*, 1982). В исследуемом веществе определяли фактор индукции SOS-ответа (IF) по соотношению активности конститутивной щелочной фосфатазы и индуцибельной β -галактозидазы (Mersch-Sundermann *et al.*, 1991; Bouhlef *et al.*, 2007). В случае $IF > 2$ – вещество генотоксично, $IF < 2$ – негенотоксично.

2.2.4. Бактериальные тест-системы для определения антимутагенных эффектов биокомплекса перги

2.2.4.1. Модификации теста Эймса

Определялось влияние биокомплекса на основе перги на уровень мутагенеза, индуцированного мутагеном - МННГ. Тест Эймса проводился в двух модификациях (вариантах):

1. Различные концентрации биокомплекса и мутаген добавляли в верхний агар без предварительной инкубации с тестерным штаммом для оценки возможных десмутагенных свойств.

2. Тестерные бактерии предварительно инкубировали с исследуемыми концентрациями биокомплекса на основе перги в течение 2 часов, после этого в верхний агар добавляли мутаген в концентрации 50 мкг/мл для оценки биоантимутагенного эффекта.

Для оценки антимутагенного эффекта биокомплекса сравнивали число колоний прототрофов, индуцированных мутагеном без обработки клеток раствором биокомплекса, и после преинкубации клеток одновременно с мутагеном и раствором. Ингибирование мутагенного эффекта менее чем на 25% свидетельствует о слабом, от 25% до 40% о среднем, выше 40% - о сильном антимутагенном эффекте (Negi *et al.*, 2003).

2.2.4.2. Модификации SOS-хромотеста

Антигенотоксический эффект биокомплекса на основе перги определяли по SOS-хромотесту в различных модификациях.

1. Для исследования на биоантимутагенную активность клетки *E. coli* PQ37 обрабатывались раствором биокомплекса в течение 2 часов. Затем бактериальную суспензию разводили L-бульоном в соотношении 1/10 и разливали по пробиркам, содержащим исследуемые соединения. В качестве мутагена был использован митомицин - МС (100 мкг/мл).

2. Мутаген и раствор биокомплекса одновременно добавлялись в культуру клеток тестерного штамма.

После этого проводили сравнение фактора индукции SOS-ответа при действии мутагена и биокомплекса и только мутагена. Антигенотоксический эффект биокомплекса определяли по формуле (Bouhlef *et al.*, 2007).

2.3. Фармако-токсикологические и физиолого-биохимические методы исследований

В начале были исследованы фармако-токсикологические свойства кормовой добавки (КД), после чего определяли ее эффективность в птицеводстве.

В лабораторных опытах использовали 60 белых мышей, 96 белых крыс обоего пола, 12 морских свинок, 8 кроликов. Проводились биохимические исследования и лабораторные анализы 120 проб крови птицы разного возраста.

Для определения токсичности Винивета пользовались руководствами: Е.А. Лужников (1999), СанПин (1997), В.Г. Кашкин (2006). Токсичность КД определялась на двух группах белых мышей с массой 18-22 грамма. Для этого препарат суспензировали водой в соотношении 1:1 и вводили в желудок с помощью зонда в объеме 0,5 мл ежедневно в течение 14 дней.

Аллергизирующее действие КД определяли на 12 морских свинках путем гистаминовой пробы.

Эмбриотоксические свойства КД исследовались на 36 крысах массой 268-280 г. Опытная группа самок до случки получала корм с добавлением 3% биокомплекса в течение 15 дней и в процессе беременности. Контрольные животные получали кормовую смесь без добавления КД.

Энергия роста крыс изучалась на 60 белых крысах обоего пола, подобранных по принципу аналогов, которых разделили на 5 групп по 12 голов в каждой. Крысы ежедневно получали корм (смесь комбикорма с овсом) в соответствии с нормативами. Опытные группы животных получали смесь комбикорма с овсом и КД из расчета 0,5; 1,0; 2,0 и 3 % по массе соответственно а контрольная – без добавки.

Производственные испытания эффективности кормовой добавки проводились на 18000 птицах в различных птицеводческих хозяйствах. Кровь для гематологических исследований у птиц брали из подкрыльцовой вены утром до кормления (R. Booth, D. Bryden, 1998). Для биохимических и иммунологических анализов кровь брали путем убоа не менее трех цыплят из каждой группы. Концентрацию общего белка в сыворотке цыплят крови определяли при помощи рефрактометра, определение неорганического фосфора проводили по В.Ф. Коромыслову и Л.А. Кудрявцевой (1991) и Е.А. Кост (1975). Содержание кальция определяли трилонометрическим методом по Б.И. Антонову (1991). Каротин устанавливали колориметрическим методом (В.Ф. Коромыслов, Л.А. Кудрявцева, 1973).

Морфологию крови изучали по известным методикам (А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева, 1974; R. Booth, D. Bryden, 1998; В.Я. Антонова, В.В. Долгов, П.В. Свиринов, 2005).

Количество гемоглобина в пробах крови определяли с помощью гемометра Сали, общее количество эритроцитов и лейкоцитов считали в камере Горяева (Ю.М. Неменова, 1972). Лейкоформулу вычисляли подсчетом мазков крови, окрашенных по методу Романовского-Гимза.

НСТ-тест в спонтанном и стимулированном вариантах по методике А.Л. Козлюк с соавт. (1987) в модификации А.М.Алимова с соавт. (1989) использовался для определения функциональной активности нейтрофилов крови. В стимулированном тесте применяли суспензию сальмонелл вакцинного штамма ТС-177.

Неспецифический фактор резистентности определялся по содержанию церулоплазмينا по методу Н. Ревина (1961).

Содержание сульфгидрильных групп сыворотки крови определялось методом амперометрического титрования (Y.M. Kolthoff, N.S. Harris, 1976).

Иммунологическая реактивность цыплят изучалась путем вакцинации птиц в возрасте 30 дней сухой вирусвакциной против болезни Ньюкасла из штамма «Ла-Сота». Реакции вируснейтрализации и гемагглютинации служили критерием выработки специфических антител в ответ на введение вирусвакцины болезни Ньюкасла

Статистический анализ данных

Статистическую обработку результатов проводили в стандартной компьютерной программе Microsoft Office Excel 2007. Для оценки достоверности различий между результатами в вариантах опыта использовали t-критерий Стьюдента для множественных сравнений. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез был принят за $p < 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение состава и свойств биологически активной субстанции «Перга очищенная» и целевых продуктов на ее основе

3.1.1. Определение состава целевых продуктов

Сравнительный анализ химического, аминокислотного и витаминного состава пчелопродуктов и биоконплексов на их основе показал, что в процессе технологической обработки природной перги и мервы их первоначальный состав полностью сохраняется. Компонентный состав целевых продуктов приведен в табл. 2-4.

Таблица 2.
Микроэлементный состав биологически активных субстанций и целевых продуктов
(n=100)

Показатель	Субстанция «Перга очищенная»	Субстанция «Мерва»	Кормовая добавка «Винивет»	Лекарственный препарат «Винибис»
Единицы измерения	мг/кг			мг/сут. доза (1,95 г)
Железо	47,59	102,83	102,3	8,5
Цинк	18,53	59,54	59,1	
Марганец	19,84	31,77	31,6	3,75
Магний				12
Кремний				4
Медь	0,083	0,243	0,241	1,53
Кобальт	-	-	1,2	
Молибден			1,2	
Фосфор			4,7 г/кг	18,5
Калий			0,7 г/кг	34,5
Кальций			3,2 г/кг	31,5

Полученные биоконплексы, также как и продукты пчеловодства представляют собой сложные многокомпонентные субстанции, включающие в себя комплекс водо- и жирорастворимых витаминов, аминокислот и микроэлементов и являются универсальными источниками природных биологически активных веществ.

Таблица 3.

**Аминокислотный состав биологически активных субстанций
и целевых продуктов (n=100)**

Показатель	Субстанция «Перга очищенная»	Субстанция «Мерва»	Кормовая добавка Винивет	Лекарственный препарат Винибис
Единицы измерения	%			мг/сут. доза (1,95 г)
Аланин	1,84	0,4	0,137	
Аргинин	0,89	9,3	3,078	152,5
Аспарагиновая кислота	2,10	16	5,326	
Валин	1,10	1,2	0,213	209
Гистидин	0,93	9,1	3,0	99
Глицин	0,84	18,4	6,073	
Глутамин	-	1,4	0,461	
Глутаминовая кислота	2,24	5,4	1,80	
Изолейцин	0,92	3,6	1,191	178,5
Лейцин	1,50	2,3	0,80	166,5
Лизин	1,00	3,8	1,27	217
Метионин	0,62			69
О-фосфо-L-серин	Не обнаружено	12	3,956	
Триптофан				40,5
Пролин	2,05			
Серин	1,05	9,3	3,07	
Тирозин	0,65			
Треонин	0,97	1,3	0,429	113
Фенилаланин	0,88	1,2	0,41	123,5
Цистеин	2,44	-	0,0008	

Таблица 4.

Витаминный состав биологически активных субстанций и целевых продуктов (n=100)

Показатель	Субстанция «Перга очищенная»	Субстанция «Мерва»	Кормовая добавка Винивет	Лекарственный препарат Винибис
Единицы измерения	мг/кг			мкг/ сут. доза (1,95 г)
А	0,7	Не обнаружено	0,007	153 М.Е.
В ₁	8	1,5	1,57	24
В ₂	5,5	3,5	3,5	63
РР	51	Не обнаружено	0,51	58,5
В ₅	36	Не обнаружено	0,42	2,1
В ₆	21	Не обнаружено	0,21	19,5
В ₁₂	2	Не обнаружено	0,02	15
В _с	1,2	0,8	0,08	18,5
С	1080	Не обнаружено	11,2	20535
Д ₃	4	Не обнаружено	0,09	59,5
Е	12	8,7	8,64	3,1
Н	0,8	Не обнаружено	0,008	1,8
К ₃	39,4	7,1	19	

3.1.2. Антимутагенный потенциал биоконплекса на основе перги

Перед исследованием антимутагенных потенциала биоконплекса на основе перги нами проводилась оценка токсического эффекта его образцов в отношении тестерных бактерий, а также генотоксического потенциала образцов в бактериальных тест-системах.

3.1.2.1. Токсический эффект биоконплекса по отношению к тестерному штамму *Salmonella typhimurium* TA 100

Процент выживания штамма в концентрациях от 1 до 1000 мкг/мл составил более 100% (табл. 5), т.е. биоконплекс на основе перги, не проявив токсических эффектов на штамме *S. typhimurium* TA100 в исследованном спектре концентраций, даже стимулировал рост бактерий.

Таблица 5.

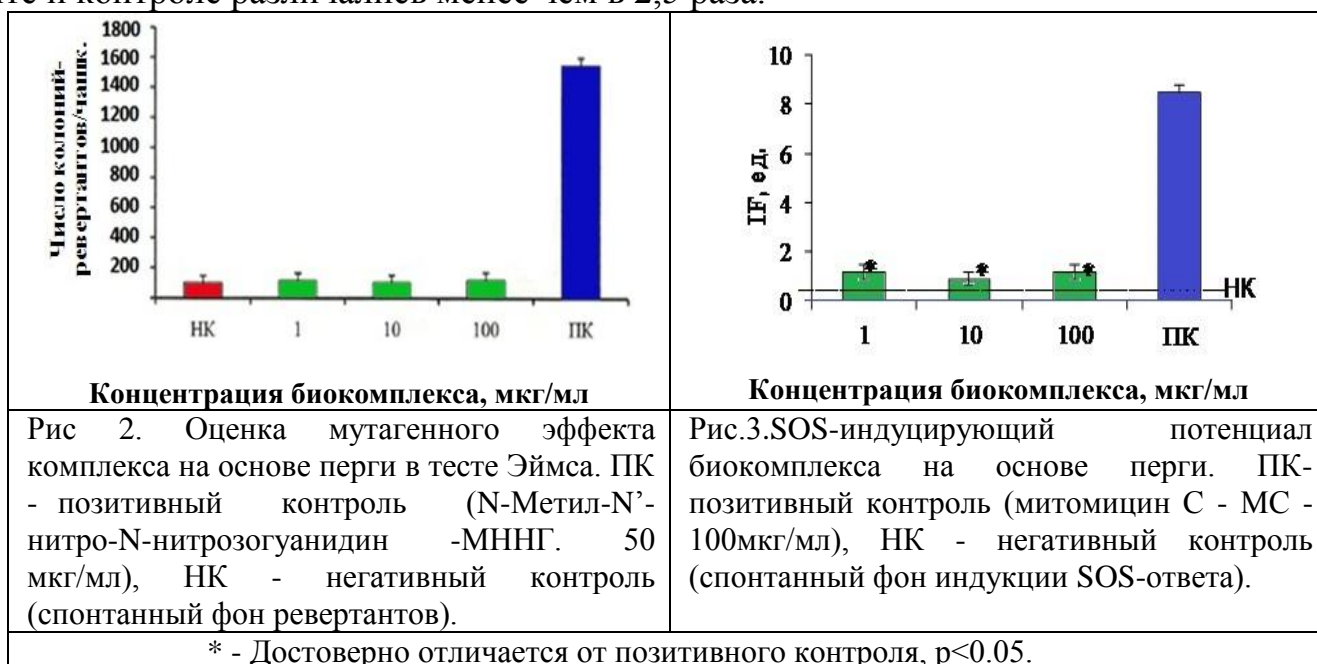
Влияние биоконплекса на основе перги на рост штамма
S. typhimurium TA 100

концентрация биоконплекса на основе перги, мкг/мл	1	10	100	1000	Контроль
количество КОЕ на чашку	40±2	44±3	41±1	43±5	39±6
выживаемость, %	102	113	105	ПО	100

3.1.2.2. Мутагенные и генотоксические эффекты биоконплекса на основе перги

В ходе работы было проведено исследование токсикологических и мутагенных свойств биоконплекса на основе перги, результаты которого позволяют оценить его протекторные свойства на геном.

В тесте Эймса определено, что число His⁺ревертантов, индуцируемых биоконплексом в концентрациях от 1 до 100 мкг/мл не превышало спонтанный фон мутирования (рис. 2). Исследованные образцы биоконплекса на основе перги не обладают мутагенной активностью в тесте Эймса, так как число колоний-ревертантов в опыте и контроле различались менее чем в 2,5 раза.



Исследуемый биокomплекс не проявил активности и в SOS-хромотесте (рис.3) и не индуцировал значительный SOS-ответ в клетках тестерного штамма *E. coli* PQ37 ни в одной из исследуемых концентраций, т.е. не обладает генотоксическими свойствами.

3.1.2.3. Антимутагенное действие биокomплекса на основе перги в тесте Эймса

В целях определения предположительного механизма антимутагенных эффектов тест Эймса проводился в различных модификациях.

В первой модификации теста Эймса N-Метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидин (МННГ) вносили в верхний агар одновременно с бактериями, прошедшими двухчасовую преинкубацию с различными концентрациями вещества (рис.4а). Установлено, что исследуемый биокomплекс обладает статистически достоверным выраженным биоантимутагенным эффектом, снижая число колоний-ревертантов, индуцированных МННГ на 67-73%.

Во второй модификации теста биокomплекс на основе перги исследовали на наличие десмутагенного эффекта. Результаты показали, что исследуемый биокomплекс обладает десмутагенной активностью, снижая число колоний-ревертантов, индуцированных мутагеном на 55-57%. (рис. 4б).

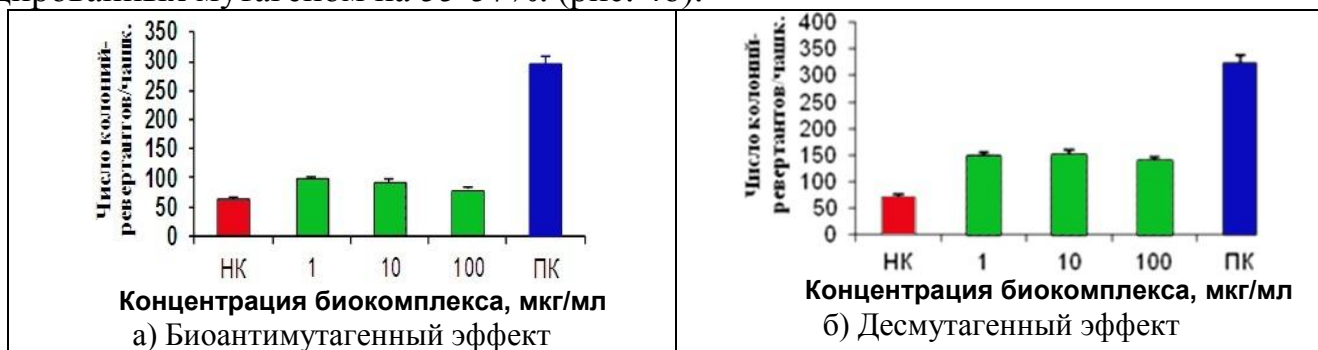


Рис. 4. Влияние биокomплекса на основе перги на мутагенную активность МННГ в тесте Эймса: а) вариант предварительной инкубации тестерных бактерий с биокomплексом с последующим добавлением МННГ; б) вариант одновременного действия биокomплекса и МННГ на клетки тестерных бактерий. ПК -позитивный контроль - МННГ, 50 мкг/мл, НК - негативный контроль спонтанный фон ревертантов).* - Достоверно отличается от позитивного контроля, $p < 0.05$

3.1.2.4. Антигенотоксическое действие биокomплекса на основе перги в SOS-хромотесте

Для определения антигенотоксических эффектов биокomплекса на основе перги SOS-хромотест также проводился в различных модификациях. В качестве мутагена применяли митомицин С (МС). В варианте предварительной обработки в течение двух часов культуры клеток *E. coli* PQ37 с 100 мкг/мл биокomплекса на основе перги мутагенное действие индуктора SOS-ответа клеток МС практически полностью исчезало (рис. 5а). Результаты эксперимента подтверждают наличие у исследуемого биокomплекса на основе перги биоантимутагенных свойств, обнаруженных ранее в модификации теста Эймса (рис. 4а).

Экспериментальные данные, полученные во второй модификации SOS-хромотеста - при одновременном внесении МС и биокomплекса на основе перги к культуре клеток *E. coli* PQ37 (рис.5б) - подтвердили наличие у биокomплекса

десмутагенного эффекта (рис.4б). В этом случае наблюдалось статистически достоверное снижение фактора индукции SOS-ответа на 62-68%.

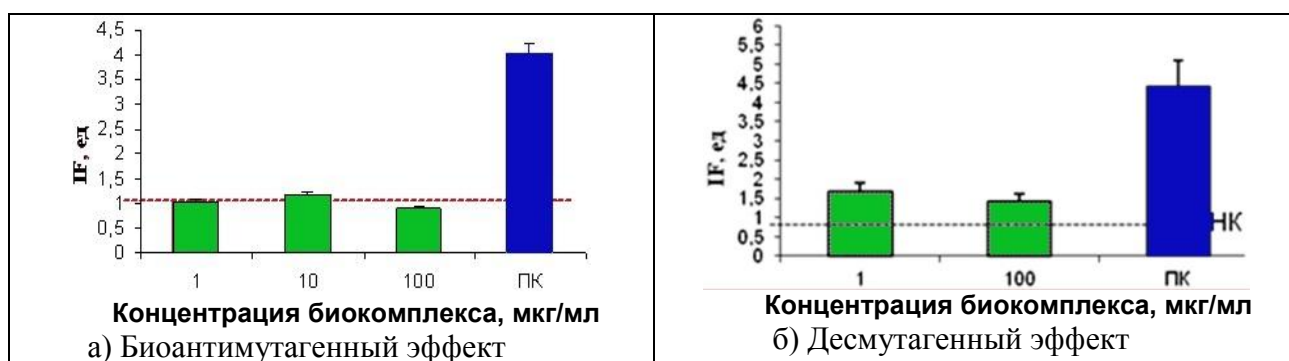


Рис.14. Влияние биоконплекса на основе перги на SOS-индуцирующую активность митомцина С: а) вариант предварительной инкубации тестерных бактерий *E. coli* PQ37 с исследуемым биоконплексом с последующим добавлением МС). б) вариант одновременного действия биоконплекса и МС на клетки *E. coli* PQ37). НК (пунктирная линия) - негативный контроль (спонтанный фон индукции SOS-ответа). ПК - позитивный контроль (МС -100 мкг/мл). * - Достоверно отличается от позитивного контроля, $p < 0.05$

3.1.3. Определение токсичности целевых продуктов «Винибис С» и «Винивет» на лабораторных животных

3.1.3.1. Определение токсичности биологически активной добавки к пище «Винибис С»

Острая неспецифическая токсичность.

Первичную токсикологическую оценку взвеси таблеток «Винибис С» в воде при зондовом введении в желудок через рот (per os) проводили в острых опытах на беспородных белых мышах обоего пола массой $19,0 \pm 2,0$ г. Результаты показали, что острая среднесмертельная доза (ЛД₅₀) «Винибис С» превышает 20000 мг/кг, т.е. продукт является практически нетоксичным и неопасным по способности вызывать острое отравление (Заугольников, Кочанов 1978).

Раздражающий эффект на слизистую оболочку глаз.

Результаты опытов, проведенных на белых крысах, показали, что при однократной аппликации изучаемых взвесей «Винибис С» в воде в концентрациях 2% и 5% на конъюнктиву глаза крысы не наблюдалось в течение недели видимых изменений тканей- гиперемия, отек, некроз или помутнение роговицы, т.е. биоконплекс в концентрациях 2% и 5% не обладают раздражающим (ирритантным) эффектом на роговицу глаза крысы.

Кожно-раздражающий и кожно-резорбтивный эффект.

Результаты эксперимента на определение кожно-раздражающего и кожно-резорбтивного эффекта, проводимого на 6 белых беспородных крысах обоего пола взвеси таблеток «Винибис С» в воде в концентрациях 2% и 5% в течение 7 дней (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Изд. 2-е переработанное и дополненное, 2005) показали, что функциональных и морфологических нарушений кожи (отеков, трещин, изъязвлений, изменения местной температуры) нет. Изменений в поведении крыс.

Ульцерогенное действие.

Эксперименты проведены на 10 белых беспородных мышах обоего пола. Взвеси таблеток «Винибис С» в воде в дозах 500,0, 1000,0 и 2000,0 мг/кг тестировали при зондовом введении в желудок через рот (per os). Результаты опытов показали, что гиперемии, кровоизлияний, эрозий, перфораций не обнаружено.

3.1.3.2. Определение токсичности кормовой добавки (КД) «Винивет»

После одно- и многократного введения в желудок белых мышей суспензии КД «Винивет» в объеме 0,5 мл, так же как у контрольных мышей, отклонений в физиологическом состоянии и гибели не наблюдалось. При патологоанатомических исследованиях умерщвленных мышей паренхиматозные органы у контрольных и опытных групп были сходны и патологические изменения не обнаруживались. Селезеночные индексы в контрольной группе составили $6,1 \pm 0,3$, в опытной - $6,2 \pm 0,2$.

При длительном кормлении 10 крыс добавкой «Винивет» в количестве 3 % от объема корма в клиническом статусе отклонений не наблюдалось.

При вскрытии крыс через 30 дней с начала опыта у всех опытных животных желудочно-кишечный тракт, легкие, почки, сердце, печень, селезенка, лимфатические узлы не отличались от таковых контрольной группы.

Аллергизирующее действие КД изучали на 12 морских свинок путем гистаминовой пробы. За опытной и контрольной группами морских свинок наблюдение вели в течение 6 часов после инъекции гистамина. В обеих группах пали по 3 морских свинки. Наступление начала гистаминового шока у животных контрольной группы составляло $17,2 \pm 0,8$ мин., в опытной группе - $17,4 \pm 0,6$ мин. Гибель животных проходила через 53-65 мин. в обеих группах. У выживших морских свинок клинические признаки исчезли через 3,5-4,0 часа после введения гистамина. Сходство проявления гистаминового шока у опытной и контрольной группы морских свинок свидетельствует об отсутствии аллергизирующего действия КД «Винивет».

В опытах на кроликах установили, что добавка не проявляет местно-раздражающего действия. В частности, после нанесения фильтрата препарата на конъюнктиву глаз и на кожу кроликов видимых изменений не наблюдалось.

3.1.3.3. Определение эмбриотоксических свойств КД Винивет

При добавлении в состав корма беременным животным «Винивет» не оказывал отрицательного воздействия на их клиническое состояние, эмбриогенез и качество потомства. КД «Винивет» способствовала некоторому улучшению репродуктивной функции самок, что выражалось в относительном увеличении количества желтых тел в яичниках, мест имплантации и живых плодов.

Исследования на токсичность биоконплексов на основе продуктов пчеловодства показали, что они являются безвредными и активно участвуют в физиологических и биохимических процессах живого организма.

3.1. 4. Исследование влияния кормовой добавки Винивет на биохимические показатели крови и физиологические параметры птицы

Определение эффективности применения Винивета на рост и развитие цыплят проводилось на трех группах бройлеров кросса «Конкурент-2» по 1850 голов в группе с суточного до 60 дневного возраста в условиях племенного репродуктора.

Таблица 6

Клеточный и химический состав крови и сыворотки цыплят (n=60)

Состав крови и сыворотки	Концентрация по группам		
	Опытная 1, 1 % КД	Опытная 2, 2% КД	Контрольная
Общий объем клеток, %	38,6±1,3	36,5±1,1	35,5±1,1
гемоглобин (г/л)	128,0±2,1	119,0±3,7	115,0±3,7
эритроциты (10^{12} /л)	3,7±0,02	3,8±0,03	3,5±0,03
лейкоциты (10^9 /л)	31,4±1,2	31,2±1,5	21,2±1,5
тромбоциты (10^9 /л)	34,1±1,8	33,6±0,9	33,6±1,9
общ. белок (г/л)	39,3±0,9	38,8±1,1	29,8±1,1
альбумины (г/л)	10,0±1,7	9,7±0,5	9,2±0,5
мочевина (мг/л)	101,3±3,7	100±0,4	103,3±4,1

Качественные и количественные характеристики форменных элементов и биохимические параметры сывороток крови в опытных и контрольной группах находятся в пределах физиологической нормы. Содержание общего белка у опытных цыплят составило 38,8-39,3 г/л, в опытных цыплят 9,7-10,1 г/л, в контрольной – 9,20 г/л. Концентрация мочевины в сыворотке крови находилась в пределах физиологических норм- от 101,3 до 103,3 мг/л.

Гематологическими исследованиями установлено (табл.6), что добавка Винивет не оказывает повреждающего действия на организм птицы, повышает содержание гемоглобина, эритроцитов и общего белка в крови, что способствует улучшению обмена веществ и более интенсивному их росту, за счет обеспечения птицы белково-минеральными и углеводистыми веществами, необходимыми для организма. Винивет также способствует повышению энергии роста цыплят-бройлеров. К концу опыта (60 суток) средняя живая масса цыплят, получавших 1,0% и 0,5% Винивета были выше показателей контрольной группы на 9,1 % и 2,2 %.

3.1.4.1. Влияние на состояние естественной резистентности и иммуногенез

Естественная резистентность кур

Опыт по изучению влияния Винивета на естественную резистентность кур яичного кросса Бованс продолжался на двух группах по 490 птиц в течение 2 месяцев.

Таблица 7

Показатели естественной резистентности (n = 10)

Показатели	опытная группа	контрольная группа
Бактерицидная активность кожи, %	54,4±0,5	48,2±0,6
Лизоцимная активность в сыворотке крови, %	61,1±0,2	51,1±0,1
Индекс активности нейтрофилов в спонтанном НСТ-тесте	7,1±0,2	6,4±0,1
Индекс активности нейтрофилов в стимулированном НСТ-тесте	13,3±0,1	11,5±0,1
Показатель резерва ПР	1,87	1,79
Коэффициент метаболической активности КМА	0,87	0,79

У птицы опытной группы изучаемые показатели были относительно выше, чем в контрольной. Бактерицидная активность кожи больше на 6,2 % ($P < 0,05$), лизоцимная активность на 13,6 % ($P < 0,05$). Эти данные коррелировали с показателями активности нейтрофилов (табл.7).

Активность нейтрофилов в спонтанном и стимулированном тестах в опытной группе кур превышала контрольный уровень, соответственно, на 10,9% и 15,6 % ($P < 0,05$). Показатель резерва и коэффициент метаболической активности у опытной группы составили 1,87 и 0,87, в контроле – 1,79 и 0,79, соответственно. Опытная группа обладала более выраженной функциональной активностью, что свидетельствует о ее более высокой резистентности.

Гематологическими исследованиями установлено, что количество эритроцитов и лейкоцитов в опытной группе кур с возрастом незначительно возрастало от $3,3 \pm 0,3$ до $3,7 \pm 0,11 \times 10^{12}$ /л и от $25,1 \pm 0,3$ до $26,1 \pm 0,3 \times 10^9$ /л, соответственно. Такая тенденция наблюдалась и по уровню гемоглобина (от $108 \pm 1,2$ до $118 \pm 0,9$ г/л). В контрольной группе содержание эритроцитов и лейкоцитов также находилось в пределах физиологической нормы. Количество гемоглобина колебалось от $103 \pm 0,8$ до $107 \pm 0,7$ г/л, что несколько ниже по сравнению с показателями опытной группы, но не выходило за пределы физиологической нормы.

Полученные данные свидетельствуют об улучшении биохимического состава крови в опытной группе. Количество общего белка варьировало от $59 \pm 0,1$ до $64 \pm 0,2$ г/л, что соответствует физиологической норме. Содержание кальция, фосфора, каротина в обеих группах находилось в пределах физиологической нормы, хотя у опытных птиц они были относительно выше по сравнению с контролем. Гематологические и биохимические показатели у опытной группы кур превышали уровень контрольной группы, что свидетельствует о положительном влиянии целевого продукта на обмен веществ. Таким образом, кормовая добавка Винивет повышает гуморальные факторы резистентности.

Развитие специфического иммунитета у цыплят

Широкое распространение среди незаразных болезней имеют нарушения обмена веществ в организме, в частности минерального. Минеральные вещества, входящие в состав биологически активных соединений и генетического аппарата клеток, способствуют нормальному функционированию различных органов и тканей.

Если корма бедны минеральными веществами или содержат их не в тех соотношениях, в каких необходимо организму, то минеральный состав крови поддерживается за счет минеральных депо, что ведет к уменьшению содержания одного или всех элементов.

Для проявления генетически обусловленной потенциальной способности организма синтезировать качественный белок, необходимо создать условия кормления и содержания, обеспечивающие наиболее оптимальное течение процессов обмена веществ в организме животных. Способность иммунной системы к предупреждению заболеваний также находится под влиянием пищевого статуса. Таким образом, недостаточное количественное и качественное питание ведет к нарушению регуляции иммунного ответа.

Пчелиные продукты обладают выраженными гемопозитическими свойствами,

способствуют повышению содержания в крови эритроцитов, ретикулоцитов и гемоглобина, обеспечивают нормализацию количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы, а также обладают иммуномодулирующим эффектом. Винивет содержит в своем составе практически полный комплекс всех жизненно необходимых нутриентов, предопределяющих физиологически нормальное состояние иммунитета.

Исследовали влияние кормовой добавки Винивет на развитие специфического иммунитета у цыплят при вакцинации против болезни Ньюкасла по изменению содержания вируснейтрализующих и задерживающих гемагглютинацию антител в сыворотке крови (табл. 8).

Специфические вируснейтрализующие антитела обнаруживались после вакцинации на третьи сутки, а гемагглютинирующие – на пятые сутки. Динамика формирования антител в обеих группах была сходной. Однако, у цыплят, получавших Винивет, титры антител были несколько выше в обеих реакциях, хотя они статистически достоверно не отличались ($P>0,05$).

Гемагглютинирующие антитела, в отличие от вируснейтрализующих, появлялись лишь на 5-е сутки после вакцинации и составили в титрах опытной группы $3,3\pm 0,2$; контрольной – $3,1\pm 0,3$ Lg_2 , а к 21 дню достигали $8,9\pm 1,2$ и $8,1\pm 0,9$ Lg_2 , соответственно, т.е. титры гемагглютинирующих антител у опытных групп цыплят были выше во все сроки исследования.

Таблица 8

Формирование специфических антител после вакцинации цыплят (n=6)

День	Опыт		Контроль	
	ВН (Lg)	ГА (Lg_2)	ВН (Lg)	ГА (Lg_2)
1	отр.	отр.	отр.	отр.
2	отр.	отр.	отр.	отр.
3	$2,8\pm 0,2$	отр.	$2,3\pm 0,3$	отр.
4	$4,0\pm 0,4$	отр.	$3,0\pm 0,3$	отр.
5	$4,3\pm 0,2$	$3,3\pm 0,2$	$3,6\pm 0,4$	$3,1\pm 0,3$
7	$4,3\pm 0,2$	$6,3\pm 0,7$	$3,8\pm 0,4$	$5,8\pm 0,4$
21	$5,3\pm 0,6$	$8,9\pm 1,2$	$5,1\pm 0,7$	$8,1\pm 0,9$

Таблица 9

Содержание сульфгидрильных групп и церулоплазмينا в сыворотке крови цыплят (n=6)

Группы	С Сульфгидрильные группы, мкМ		Д Церулоплазмин, ед.оп.пл.
	Общие	Белковые	
До вакцинации			
Опыт	21,3±1,0	24,2±1,0	3,1±0,3
Контроль	19,2±1,0	23,1±3,0	3,0±0,2
После вакцинации через 21 день			
Опыт	20,1±0,8	38,2±1,4	6,7±1,0
Контроль	18,3±0,6	34,3±1,1	6,5±0,9

Сульфгидрильные группы и церулоплазмин характеризуют состояние гуморальных показателей резистентности. Определение церулоплазмينا проводили в

связи с тем, что он является единственным компонентом плазмы крови, который обладая окислительными свойствами, катализирует окисление некоторых полиаминов (табл. 9). У опытных групп цыплят содержание в сыворотке крови сульфгидрильных групп и церулоплазмينا перед вакцинацией было немного выше по сравнению с контролем. Через 21 день после вакцинации у цыплят обеих групп происходило нарастание содержания белковых сульфгидрильных групп и церулоплазмينا. Количество белковых сульфгидрильных групп в опытной группе цыплят после вакцинации возросло на 58,3 %, в контрольной - на 47,8% ($P<0,001$). Количественные показатели церулоплазмينا в сыворотках крови после вакцинации в обеих группах увеличилось почти в 2,2 раза ($P<0,05$).

Результаты исследований белкового состава крови цыплят отражают положительное влияние Винивета на процесс иммуногенеза. До вакцинации количество общего белка и его фракций в обеих группах цыплят были почти на одинаковом уровне. Через 15 дней после вакцинации содержание общего белка незначительно увеличилось у цыплят обеих групп. На фоне снижения концентрации альбуминов наблюдалось заметное нарастание количества гамма-глобулиновой фракции сывороточного белка - у контрольных цыплят на 25,2 % ($P<0,05$), у опытных - на 55,3 % ($P<0,05$). Нарастание фракции гамма-глобулинов коррелирует с титрами специфических антител в обеих группах. Однако, на фоне применения Винивета сдвиг в 1,6 раза выше контрольного уровня.

НСТ-тест наиболее наглядно демонстрирует функциональное состояние полиморфно-ядерных клеток крови. При этом в качестве антигена в стимулированном тесте использовали суспензию вакцины против болезни Ньюкасла (таблица 10).

Таблица 10

Функциональная активность полиморфно-ядерных клеток крови цыплят (n=6)

№ п/п	Показатели	До вакцинации		Через 15 дней после вакцинации	
		контр.	опыт	контр.	опыт
1	Формаза-положительные клетки в спонтанном тесте	5,8±0,09	6,0±0,11	6,1±0,21	6,9±0,12
2	Формаза-положительные клетки в стимулированном тесте	6,3±0,08	6,8±0,14	10,7±0,11	13,4±0,13
3	Показатель резерва	1,09	1,13	1,59	1,95
4	Коэффициент метаболической активности	0,09	0,13	0,59	0,94

Полученные данные позволяют констатировать более высокую активность нейтрофилов крови у цыплят опытной группы, что наиболее выражено в стимулированном тесте. Количество активных клеток у опытных цыплят в стимулированном тесте на 25,2% выше контроля ($P<0,05$). Аналогичная тенденция отмечалась и в показателях резерва и коэффициента метаболической активности нейтрофилов. Следовательно, кормовая добавка Винивет стимулирует иммуногенез у цыплят, что подтверждается более интенсивным нарастанием после вакцинации титров специфических антител, сульфгидрильных групп, фракции гамма-глобулинов и выраженной активизацией функции нейтрофилов крови у

опытных цыплят по сравнению с контрольной группой. Таким образом, включение в рацион цыплят кормовой добавки Винивет способствует повышению показателей гуморального и клеточного иммунитета.

3.1.4.2. Влияние на морфогистологические характеристики тканей индейки

У контрольной индейки гепатоциты сгруппированы в балки, цитоплазмы централобулярных клеток печени имеют выраженную зернистость и пикноморфность ядер. Перипортальные гепатоциты содержат вакуоли, которые характерны для мелкокапельного липидоза.

У индеек опытной группы на срезах печени отмечалось снижение проявления зернистости цитоплазмы централобулярных гепатоцитов. Центральные вены долек и синусоидные капилляры слабее наполнены кровью по сравнению с таковыми у контрольных птиц.

В междольковой соединительной ткани печени контрольной индейки больше обнаруживаются лимфоидные и гистиоцитарные клетки, т.е. имеют место признаки нарушения белкового и жирового обмена. На фоне применения КД дистрофические и гемодинамические расстройства печени не выражены. Увеличение количества диплоидных перипортальных митотически активных гепатоцитов, лимфоидных и гистиоцитарных клеток в междольковой соединительной ткани свидетельствуют об активизации функционального состояния гепатоцитов и иммунокомпетентных клеток стромы печени.

У контрольных индеек микроскопическая морфология железистой ткани желудка имела сформированную слизистую оболочку с выраженной подслизистой основой, трехслойный мышечный слой и тонкую серозную оболочку. У опытной индейки в железистой ткани желудка группы из нескольких трубочек, объединенные общим третичным протоком, открывались в центральную полость доли и сливались в общие вторичные протоки с образованием коротких первичных протоков, открывающихся на вершине сосочков.

Установлено, что кормовая добавка Винивет способствует активизации структурно-функционального состояния эпителия трубчатых желез, усилению кровообращения в сосудах рыхлой соединительной тканной основы слизистой оболочки и формированию новых молодых долей желез, что указывает на повышение секреторной функции железистой ткани желудка.

Кормовая добавка Винивет оказывает положительное влияние на гематологические и ростовые показатели индеек, повышает среднесуточный прирост и качество мяса. Оптимальной дозой является 0,5% от массы комбикорма. Включение Винивета в состав рациона индеек способствовало предотвращению жировой дистрофии печени и улучшению структурно-функционального состояния железистой ткани желудка и повышению ее секреторной функции.

3.2. Влияние кормовой добавки Винивет на зоотехнические показатели птицы

3.2.1. Цыплята-бройлеры кроссов Кобб Авиян 48, Хаббард, Конкурент-2

Результаты опытов на цыплятах-бройлерах показали, что добавка Винивет в дозе 5 кг/т оказывает положительное влияние на зоотехнические результаты выращивания высокопродуктивной мясной птицы. При этом повысилась сохранность птицы и ее

продуктивность (среднесуточный прирост бройлеров кросса КоббАвиан 48 составил 57,3 г; по кроссу Хаббард – 51,9 г), а также улучшилось использование питательных веществ корма: переваримость протеина, жира, использование азота повысились на 0,8; 1,0; 5,3% соответственно, что не сказалось отрицательно на доступности кальция, содержании витаминов А и Е в печени бройлеров (табл.11).

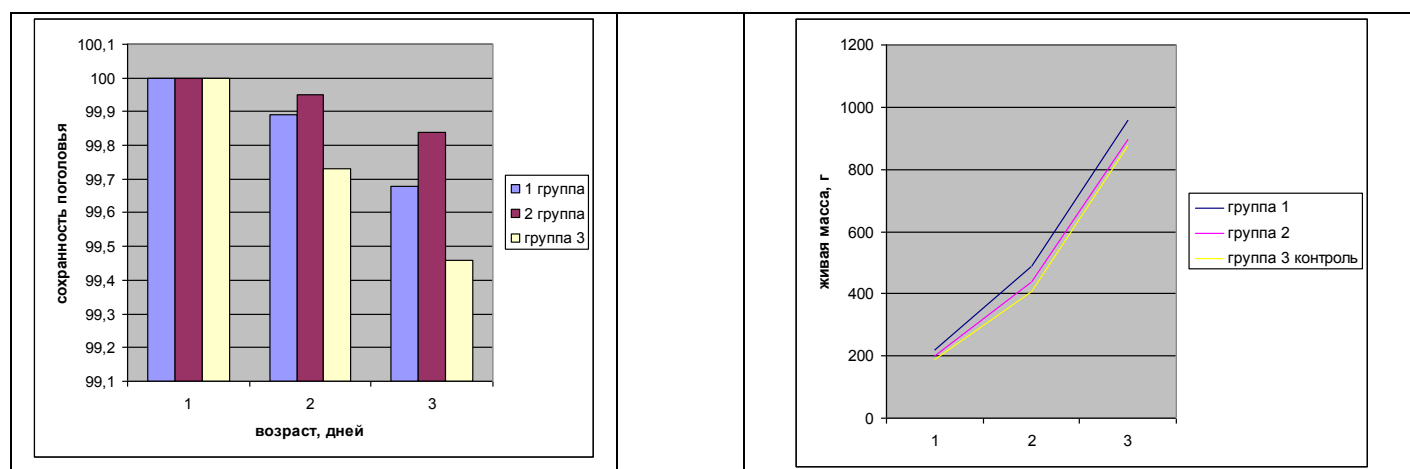
Таблица 11

Использование питательных веществ корма (n=30)

Показатель	Группа		
	1 (к)	2	3
Переваримость протеина %	91,9	92,7	92,9
Переваримость сухого вещества корма, %	73,9	73,2	76,8
Переваримость клетчатки, %	40	33,2	42,4
Переваримость жира, %	87,9	88,9	88,4
Использование вещества, %:			
азота	49,3	54,5	56
кальция	57	56,5	54,3
фосфора	46,7	46,9	46,9
Доступность, %			
лизина	89	88,8	88,7
метионина	80,1	78,3	79,4

Химический и аминокислотный состав мяса цыплят-бройлеров показал, что использование Винивета положительно сказалось на биологической ценности мяса бройлеров. По содержанию протеина (21,35%), незаменимых и заменимых аминокислот более ценным оказалось мясо цыплят второй опытной группы, получавших 5 кг/т Винивет. Содержание протеина в мясе увеличилось на 2,48%, незаменимых аминокислот – на 6,5 %.

Зоотехнические результаты (рис. 6,7) показали, что применение Винивета к концу откорма бройлеров кросса «Конкурент-2» способствовало повышению сохранности поголовья первой и второй опытных групп в сравнении с контролем на 0,22 и 0,38 %.



1-14 дней; 2 – 30 дней; 3 – 60 дней

Рис. 6. Сохранность бройлеров

Рис. 7. Живая масса бройлеров

Живая масса бройлеров первой и второй опытных групп, получавших 1 % и 0,5

% Винивета, соответственно, была выше контроля на 9,09 и 2,27% (рис.20), что позволяет утверждать о положительном влиянии кормовой добавки Винивет на прирост живой массы цыплят-бройлеров в период их активного роста.

3.2.2. Куры яичных кроссов Радонез, Бованс

Исследовалось влияние КД Винивет в концентрациях 0,5, 1,0 и 2,0% на жизнеспособность и продуктивность кур-несушек кросса Радонез со 119-дневного до 47 недельного возраста, т.е. в предкладковый и продуктивный периоды. Длительность пика продуктивности составила пять месяцев при 100% сохранности поголовья, интенсивность яйценоскости - на уровне 93,5- 94 %. Использование добавки «Винивет» в дозе 5 кг/т корма позволило обеспечить лучшую продуктивность кур. Яйценоскость кур-несушек превосходила контроль на 0,5 %, по выходу массы яиц – на 2,8%, при снижении затрат корма на 1 кг массы яйца на 2,5 %.

Анализ химического состава яиц, показал, что применение Винивета в дозе 5 кг/т корма позволило на 0,8 % увеличить содержание протеина в яйце кур. Величина кислотного числа желтка в опытных группах соответствовала нормативному показателю (не выше 5 мг/КОН/г), в то время как в контроле ее значение отклонялось от оптимального на 1,2 %.

Включение кормовой добавки Винивет в рацион кур яичного кросса «Бованс» в количестве 2% от общей массы кормовой смеси проводили в течение 3 месяцев, начиная со 133-дневного возраста, ежедневно учитывая яйценоскость и сохранность кур. Сохранность кур в опытной группе во все анализируемые сроки была выше по сравнению с контрольной. Яйценоскость в начале яйцекладки в среднем за месяц составила в опытной группе 63,9 %, что на 6,9 % выше контрольного уровня. За второй месяц в опытной группе яйценоскость достигла 85,6 %, в контроле- 70,6 %. К концу третьего месяца наблюдений (возраст кур 223 дня) яйценоскость у птиц, получавших Винивет, в среднем за месяц достигла 86,3 %, а в контроле-72,4 %. В среднем за период наблюдения яйценоскость в опытной группе составила 78,6 %, что на 11,9 % выше контрольной.

3.2.4.3. Индейка кросса «Универсал»

Наиболее высокий среднесуточный прирост у индеек оказался при включении в состав корма Винивета в дозе 0,5 % (53,5 г/сутки у самцов и 37,8 г/сутки у самок), что выше контрольных показателей, соответственно на 5,9 % и 13, 2%. При увеличении дозы Винивета до 1% средне-суточный прирост превышал контрольный уровень на 2,0 и 4,8%, соответственно.

3.3. Влияние биокомплексов на основе перги на физиолого-биохимические параметры человека

3.3.1. Иммунологические исследования у часто болеющих детей (ЧБД)

Ресурсы факторов местной защиты в значительной степени определяют вероятность внедрения возбудителя и развития инфекционного процесса в организме.

Исследование наиболее значимых компонентов местного иммунитета – показателей колонизационной резистентности, концентрации лизоцима, секреторного иммуноглобулина А (рис. 8-10). показало положительную их динамику в результате применения биокомплекса на основе перги через 2 и 6 месяцев после начала приема.

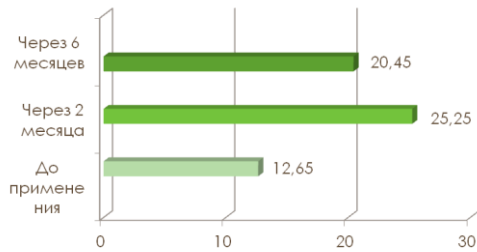


Рис. 8. Динамика содержания лизоцима у ЧБД при применении биокомплекса на основе перги

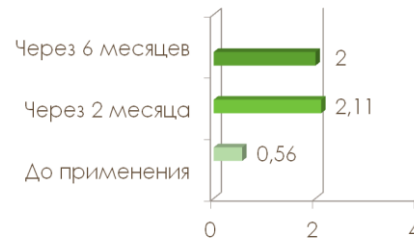


Рис. 9. Динамика показателей индекса колонизации у ЧБД при применении биокомплекса на основе перги

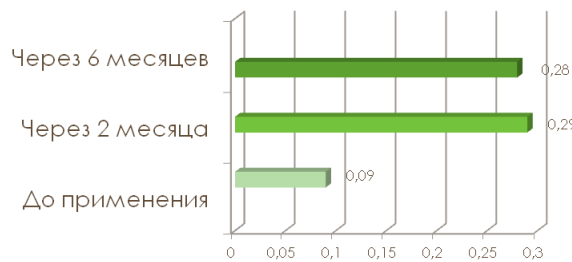


Рис. 10. Динамика содержания секреторного иммуноглобулина А у ЧБД при применении биокомплекса на основе перги

Изучение биоцидности нейтрофилов проводили в реакции люминолзависимой хемилюминесценции в спонтанном и индуцированном тестах по показателям биоцидности нейтрофилов и колонизационной резистентности.

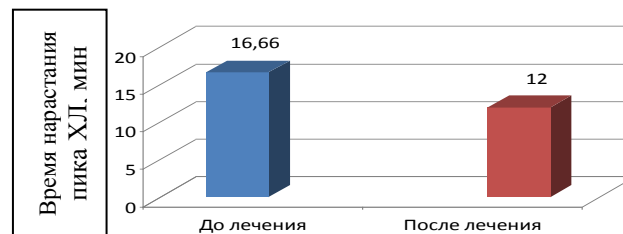


Рис. 11. Показатели люминолзависимой хемилюминесценции на фоне применения биокомплекса на основе перги

Установлено, что у детей, принимавших биокомплекс, показатели фагоцитарного резерва в 80% случаев достигли нормативных величин. Одновременно сокращалось время пика хемилюминесценции нейтрофилов, что достоверно указывает на восстановление функции нейтрофильного фагоцитоза (рис.11).

Динамическая скрининговая оценка результатов биохимических анализов крови у детей от 3 до 18 лет, получавших биокомплекс, показывают статистически достоверное повышение уровня гемоглобина (на 10 г/л) (рис. 12а).

Этот факт наряду с достоверным повышением уровня сывороточного железа (на 3 мкмоль/литр) свидетельствует о гемопоэтической активности биокомплекса на основе перги (рис.12б).

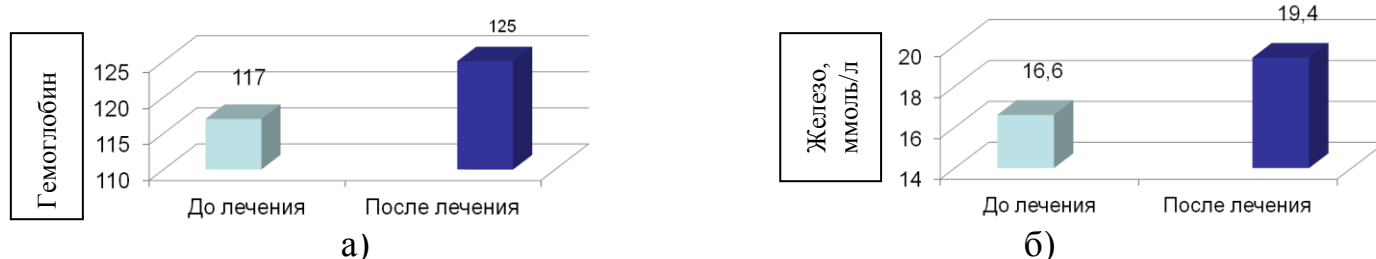


Рис.12. Динамика показателей а) гемоглобина и б) сывороточного железа на фоне применения биокомплекса на основе перги

3.3.2. Влияние биокомплекса перги на процесс ацетилирования

Одним из важнейших свойств компонентов генетически детерминированных систем организма является способность к индукции под действием внешнего воздействия. Феномен индукции является важнейшей составляющей адаптивного ответа на чужеродные соединения, попадающие в клетку. Это приводит к усилению детоксификационной функции организма с последующим выведением ксенобиотика.

Наиболее часто используемым тест-препаратом процесса ацетилирования является гидразид изоникотиновой кислоты (ГИНК), подвергающийся в организме ацетилированию путем присоединения ацетильной группы к молекуле субстрата под контролем фермента N-ацетилтрансферазы (NAT) гепатоцитов с участием кофермента А. В зависимости от фенотипа ацетилирования (ФА) метаболизм ксенобиотиков, инактивирующихся с участием NAT, имеет быстрый или медленный характер.

Под действием некоторых соединений может происходить ускорение или замедление метаболизма аминов в результате индукции или ингибирования NAT. В связи с этим весьма перспективным является изучение особенностей фармакокинетики ГИНК при совместном приеме с «Винибис С» а также установление временных и дозозависимых эффектов индукции NAT биокомплексом перги в организме человека.

Фармакокинетические параметры экскреции изониазида мочой определялись до и после приема препарата «Винибис С» по 2 таблетки (650 мг перги) 3 раза в день 15-30-дневным курсом. Обнаружено, что эффектом индукции на ФА обладает биокомплекс пчелиной перги. Установлены дозозависимые эффекты влияния «Винибис С» на активность ферментов ацетилирования, которые достоверно отличаются при установленных дозах. Процент индукции растет с увеличением дозы индуктора и является максимальным при суточной дозе в 1,95 г (табл.12).

Таблица 12.

Величина индукции (в %) в зависимости от фенотипа ацетилирования (ФА), дозы «Винибис С» и срока его приема

Суточная доза, г	0,975 г	1,95 г;	1,95
Срок приема, дни	15	15	30
Быстрый ФА	12±2 (n=6)	18±3 (n=10)	24±4 (n=10)
Медленный ФА	16±3 (n=5)	22±6 (n=14)	35±7 (n=14)

Для сравнения активаторов N-ацетилирования проверялось влияние на фармакокинетику ГИНК известных индукторов –пантотената кальция и пиридоксина гидрохлорида. Как видно из таблицы 4 их индуцирующий эффект сопоставим с индукцией биоконплекса пчелиной перги на процессы ацетилирования. Следует отметить, что при приеме пантотената кальция и пиридоксина гидрохлорида величина индукции также пропорциональна дозе индуктора (табл.13).

Таблица 13.

Индукция N-ацетилтрансферазы в зависимости от дозы индукторов ацетилирования

Фенотип ацетилирования	Индукция N-ацетилтрансферазы в зависимости от дозы активатора, %				
	Пантотенат кальция		Пиридоксина гидрохлорид		
	Доза 0,75 г	Доза 0,5 г	Доза 0,04 г	Доза 0,02 г	Доза 0,01 г
Быстрый	44±9	21±6	20±6	13±3	Нет индукции
Медленный	16±2	Нет индукции	43±6	37±3	34±2

В связи с этим применение биоконплекса пчелиной перги в качестве индуктора фермента N-ацетилтрансферазы является более целесообразным вследствие отсутствия токсичности «Винибис С» и возможности универсальности применения в качестве витаминизированного средства и антиоксиданта.

3.3.3. Антистрессовые свойства продуктов на основе перги

Влияние на человека акустических воздействий приводит к развитию хронических заболеваний в организме, а также сопровождается снижением способности к выполнению механических операций, ухудшением мышления, внимания, памяти и ведет к психоэмоциональным срывам [Кочергин А.В., Гармонов С.Ю. и др., 2005]. При этом развитие многих нежелательных состояний в организме сопровождается усилением образования активных форм кислорода (АФК) и свободных радикалов, которые могут вызвать повреждение структурных компонентов клеток. В норме их регуляция осуществляется антиоксидантной системой. При увеличении уровня шума происходит усиление процессов свободно радикального окисления липидов, что ведет к снижению антиоксидантной защиты и развитию окислительного стресса [Мелконян М.М., 1987].

Для создания шумового воздействия была использована аттестованная акустическая диффузная кабина. До- и непосредственно сразу после акустического воздействия у испытуемых проводился забор капиллярной крови для последующего определения ее антиоксидантной емкости (АОЕ) по методике [Патент 2253114 Россия, 2002; Ziyatdinova G.K., Budnikov H.C., 2006].

Результаты исследований (табл. 14, 15) свидетельствуют о зависимости изменений показателей системы антиоксидантной защиты при увеличении уровня звукового давления и частоты шумового воздействия.

Известно, что коварство шума объясняется не только его прямым действием на барабанную перепонку, но и дальнейшим влиянием на стволовые и корковые структуры мозга.

Таблица 14

Антиоксидантная емкость крови у здоровых добровольцев
(n=40 чел.) при изменении частоты акустического воздействия и времени экспозиции 30 минут

Параметры акустического воздействия	АОЕ, кКл/л	Sr	АОЕ, кКл/л	Sr	Снижение АОЕ (в % к исходным значениям)
	До воздействия шума		После воздействия шума		
250 Гц, 80 дБ	39,5±1,1	0,03	36,3±0,8	0,04	8,1
500 Гц, 80 дБ	40,3±0,8	0,03	28,3±0,6	0,03	29,7
1000 Гц, 80 дБ	39,5±0,9	0,04	34,8±1,1	0,03	11,8
2000 Гц, 80 дБ	39,3±0,8	0,04	36,1±1,1	0,03	8,3
3000 Гц, 80 дБ	39,5±0,7	0,04	36,5±1,1	0,03	7,4
5000 Гц, 80 дБ	40,1±0,5	0,03	38,2±0,6	0,03	4,2

В процессе передачи полученной физической энергии в нервные центры и преобразования ее в поток нервных импульсов происходит их взаимодействие с другими областями мозга, в частности, со структурами продолговатого мозга, где расположены центры сердечно-сосудистой, дыхательной и других видов жизнедеятельности. При этом нервные импульсы вызывают повышение тонуса сосудов, изменения нервной проводимости, приводя к появлению дисфункций, а в конечном счете - к развитию ряда патологических состояний.

Таблица 15

Антиоксидантная емкость крови у здоровых добровольцев (n=40 чел.) при изменении уровней звукового давления (экспозиция 30 минут)

Параметры акустического воздействия	АОЕ, кКл/л	Sr	АОЕ, кКл/л	Sr	Снижение АОЕ (в % к исходным значениям)
	До воздействия шума		После воздействия шума		
500 Гц, 70 дБ	39,8±0,6	0,02	31,7±0,5	0,02	20,3
500 Гц, 80 дБ	40,3±0,8	0,03	28,3±0,6	0,03	29,7
500 Гц, 90 дБ	40,5±0,7	0,02	25,5±0,8	0,04	37,0

Полученные результаты подтверждают связь патогенеза шумовой патологии с нарушениями в окислительно-восстановительном равновесии внутренней среды организма. При этом происходит сдвиг в сторону образования перекисных радикалов, которые в силу своей высокой реакционной способности вносят разлад во многие обменные реакции. Пероксидации подвергаются полиненасыщенные жирные кислоты, а так как их содержание в клеточных мембранах велико, страдают, прежде всего, клеточные стенки. Имеются данные о том, что после однократного воздействия интенсивного шума уровень перекисных липидов в плазме крови крыс повышается и держится около 8 часов, при этом остаются сниженными показатели антиоксидантной системы [Кочергин А.В., Гармонов С.Ю., 2005]. Полученные нами данные согласуются с этими результатами.

Минимизация шумового воздействия на антиоксидантную систему наблюдалась при предварительном приеме «Винибис С» по 2 таблетки (650 мг перги) 3 раза в день 15-30-дневным курсом. Для сопоставления проверялось влияние на АОЕ при шумовом воздействии антиоксиданта витамина Е.

Таблица 16

Антиоксидантная емкость крови здоровых добровольцев (n=40 чел.) при акустическом воздействии с предварительным приемом лекарственных средств, время воздействия 30 минут

Параметры акустического воздействия	АОЕ, кКл/л	Sr	АОЕ, кКл/л	Sr	Снижение АОЕ (в % к исходным значениям)
	До воздействия шума		Послевоздействия шума		
500 Гц, 80 дБ, без антиоксидантов	40,3±0,8	0,03	28,3±0,6	0,03	29,7
500 Гц, 80 дБ, с витамином Е	46,5±0,5	0,02	42,3±0,6	0,03	9
500 Гц, 80 дБ, с Винибис С - 15 дней	45,9±0,5	0,03	40,4 ±0,5	0,03	12
500 Гц, 80 дБ, с Винибис С – 30 дней	45,8±0,5	0,03	44,8±0,5	0,03	2

Как видно из таблицы 16, влияние витамина Е на АОЕ при воздействии шума сопоставимо с влиянием «Винибис С». Однако применение «Винибис С» возможно и в больших временных интервалах вследствие малой дозировки активных компонентов. В этом случае эффект снижения АОЕ практически нивелируется.

Использование биологически активной добавки к пище «Винибис С» позволяет снизить негативное влияние шума на антиоксидантную систему организма человека, а применение этого способа позволяет осуществлять профилактику при воздействии шума на промышленных предприятиях и в быту, являясь безопасным способом с точки зрения передозировки самого препарата вследствие его крайне низкой токсичности и позволяя одновременно повышать иммунный статус организма человека в неблагоприятных условиях среды.

3.3.4. Применение целевых продуктов на основе перги для детей подростков

3.3.4.1. Влияние биокомплекса на основе перги – лекарственного препарата «Винибис» на физическую работоспособность подростков

В работе проводилась оценка основных физических, умственных, психо-эмоциональных характеристик 243 детей и подростков, проживающих в детдомах г. Казани и г. Зеленодольска (Республика Татарстан), поделенных на 4 группы: 1 группа – детям проводилась только корректировка питания; 2 группа – дети получали биокомплекс на основе перги, но без корректировки питания; 3 группа – дети получали биокомплекс на фоне корректировки питания; 4 группа – группа сравнения, в которой дети не получали биокомплекс и не проводилась корректировка питания.

По исходным данным, характеризовавшим работоспособность подростков до приема биокомплекса на основе перги, физическая работоспособность как удовлетворительная оценивалась у 12,6 %, как умеренная у 11,8 %, средняя у 47,3%, хорошая у 17,5 и высокая у 10,8 % подростков. Прием подростками 2 г/сут лекарственного препарата «Винибис» вместе с приемами пищи привело к повышению показателей физической работоспособности (результаты тестирования выражались в условных единицах в виде индекса Гарвардского степ-теста -Карпман, Тихвинский, 1991). Снизилось число подростков с удовлетворительной и умеренной работоспособностью до 1,8 и 9,5 % (P<0,01) соответственно. Возросло число

подростков со средней и хорошей работоспособностью до 58,2 и 20,1 % соответственно ($P < 0,01$ и $< 0,05$). В то же время не обнаружено достоверного различия между градацией «высокий уровень работоспособности» до и после корректировки рационов питания ($P > 0,05$).

При изучении параметров функционального состояния нервной системы при сравнении всех основных групп с группой сравнения, выявлены достоверные различия по всем показателям. Первое увеличение показателей отмечалось по критерию функционального уровня нервной системы на 7 день эксперимента, в дальнейшем отмечалась положительная динамика по всем изучаемым критериям (табл. 17).

Таблица 17

Динамика показателей функционального состояния ЦНС детей
(n=243 чел.)

Показатели	Группы	Начало исследования $M \pm m$	Через 7 дней $M \pm m$	Через 17 дней $M \pm m$	Через 27 дней $M \pm m$
Функциональный уровень нервной системы ($1/\text{мс}^2$)	I	$2,54 \pm 0,08$	$2,80 \pm 0,05^{**}$	$3,07 \pm 0,06^*$	$3,18 \pm 0,08^{**}$
	II	$2,55 \pm 0,06$	$2,80 \pm 0,08^{**}$	$3,07 \pm 0,10^*$	$3,22 \pm 0,09^{**}$
	III	$2,50 \pm 0,05$	$2,70 \pm 0,06^*$	$2,97 \pm 0,06^*$	$3,27 \pm 0,10^{**}$
	IV	$2,54 \pm 0,04$	$2,50 \pm 0,04$	$2,81 \pm 0,07$	$2,64 \pm 0,06$
Устойчивость нервной реакции ($1/\text{мс}$)	I	$0,71 \pm 0,06$	$0,73 \pm 0,08$	$1,07 \pm 0,05^*$	$1,46 \pm 0,06^{**}$
	II	$0,68 \pm 0,08$	$0,79 \pm 0,10$	$1,18 \pm 0,08^*$	$1,45 \pm 0,09^{**}$
	III	$0,73 \pm 0,08$	$0,58 \pm 0,09$	$0,93 \pm 0,05^*$	$1,63 \pm 0,05^{**}$
	IV	$0,71 \pm 0,06$	$0,79 \pm 0,07$	$0,88 \pm 0,07$	$1,10 \pm 0,06$
Уровень функциональных возможностей ($1/\text{мс}^2$)	I	$1,97 \pm 0,06$	$1,79 \pm 0,04$	$2,41 \pm 0,07^*$	$2,72 \pm 0,09$
	II	$1,97 \pm 0,08$	$1,82 \pm 0,05$	$2,37 \pm 0,07$	$2,79 \pm 0,11^*$
	III	$1,87 \pm 0,06$	$1,70 \pm 0,03$	$2,44 \pm 0,08^*$	$3,13 \pm 0,06^{**}$
	IV	$1,97 \pm 0,06$	$1,93 \pm 0,06$	$2,18 \pm 0,06$	$2,72 \pm 0,09$

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Оптимизация питания с введением в рационы биокомплекса на основе перги способствовало повышению показателей физической работоспособности и улучшению функциональной активности ЦНС (показатель функционального уровня нервной системы детей и подростков, получавших биокомплекс на фоне корректировки питания, на начало исследования составил $2,50 \pm 0,05$, на 27 день – $3,27 \pm 0,10$, $p < 0,05$).

3.3.4.2. Регуляция тренировочного периода хоккеистов на фоне применения биокомплекса на основе перги «Винибис».

Результаты исследования на группе из 28 человек в возрасте 10-12 лет показали, что в начале подготовительного периода после выполнения стандартной нагрузки на первой минуте восстановления показатель концентрации молочной кислоты у юных хоккеистов контрольной группы составил $5,39 \pm 0,17$ мМ/л. Далее значение данного показателя снижалось по сравнению с рабочим уровнем: на третьей минуте –

5,03±0,27 мМ/л, пятой минуте - 4,72±0,24 мМ/л, десятой минуте – 2,89±0,26 мМ/л, и на двадцатой минуте составил 1,73±0,21 мМ/л.

Утилизация молочной кислоты у юных хоккеистов первой - опытной группы имела иную динамику: показатель концентрации молочной кислоты на первой минуте восстановления составил 4,18±0,19 мМ/л, на третьей минуте – 3,97±0,24; на пятой минуте – 3,69±0,21 мМ/л, десятой минуте – 2,40±0,22 мМ/л, двадцатой минуте – 1,08±0,26 мМ/л.

На заключительном этапе подготовительного периода у спортсменов контрольной группы было отмечено незначительное ухудшение интенсивности процесса восстановления показателя концентрации молочной кислоты. После стандартной нагрузки увеличение данного показателя у хоккеистов этой группы отмечалось до пятой минуты восстановления и составило 6,41±0,19 мМ/л; на десятой минуте - 5,88±0,17 мМ/л, на двадцатой минуте - 2,23±0,18 мМ/л.

У юных хоккеистов первой группы показатель концентрации молочной кислоты на десятой минуте составил 3,99±0,17 мМ/л, на двадцатой минуте - 2,02±0,18 мМ/л. Сравнительный анализ показателей концентрации молочной кислоты в период восстановления показал более высокую эффективность юных хоккеистов первой группы.

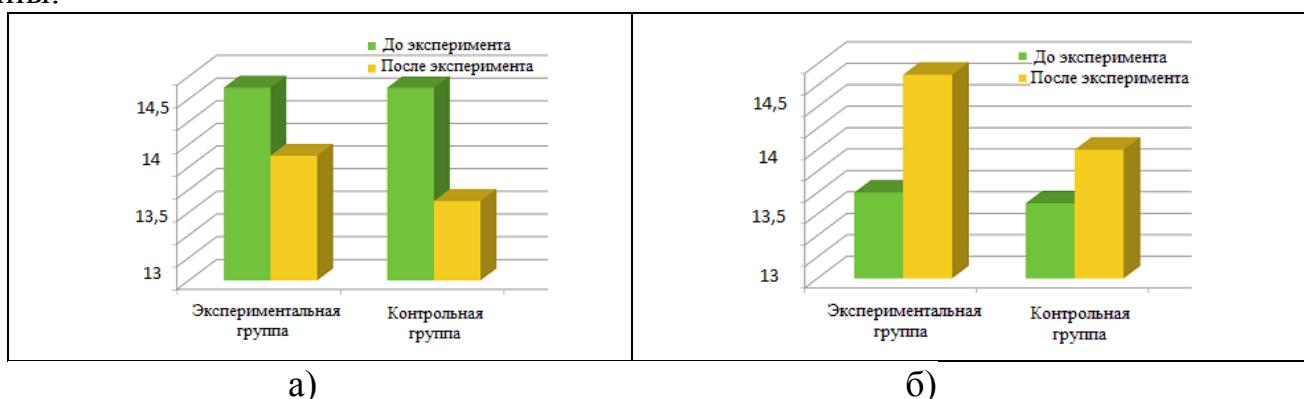


Рис. 13. Концентрация гемоглобина крови у юных хоккеистов во время
а) соревновательного и б) восстановительного периодов

Снижение физической работоспособности у спортсменов может зависеть от уровня гемоглобина в крови. Уровень гемоглобина в крови у хоккеистов после соревнований снижался, при этом не выходя за рамки физиологической нормы. Так, у спортсменов экспериментальной группы концентрация гемоглобина крови снизилась на 4,7 % ($p < 0,05$), в то время как у контрольной - на 8,6 %, ($p < 0,01$) (рис. 13). В восстановительный период концентрация гемоглобина крови у занимающихся двух групп была различной (рис. 32): у юных хоккеистов экспериментальной группы произошло повышение уровня гемоглобина на 8,3 % ($p < 0,01$) по сравнению с исходным уровнем, в то время как в контрольной группе - на 3,5 % ($p < 0,05$).

3.4. Разработка безотходной технологии переработки продуктов пчеловодства и получения биологически активных субстанций и целевых продуктов на их основе

Перга после разрушения сот быстро обсеменяется патогенной микрофлорой, а также плесневыми грибами, способными выделять микотоксины. В обычных

условиях пасеки обеззараживание перги невозможно, что определяет необходимость производства продуктов и препаратов на основе перги в промышленных условиях с соблюдением всех необходимых санитарно-технических условий.

Нами разработаны технологии, использующих разные виды сушки (вакуумная, акустическая, конвективная) по переработке неочищенной перги и заводской мервы, в которых предусмотрены линии низкотемпературного обеззараживания, что позволяет сохранить в полной мере состав и все полезные биологически активные свойства природных субстанций, а также продлить срок их безопасного хранения.

Разработанные технологии позволяют получить биологически активные субстанции – «Перга очищенная» и «Мерва», а также фармацевтические продукты, продукты питания и кормовые добавки на их основе, внедренные в производство (рис.14).

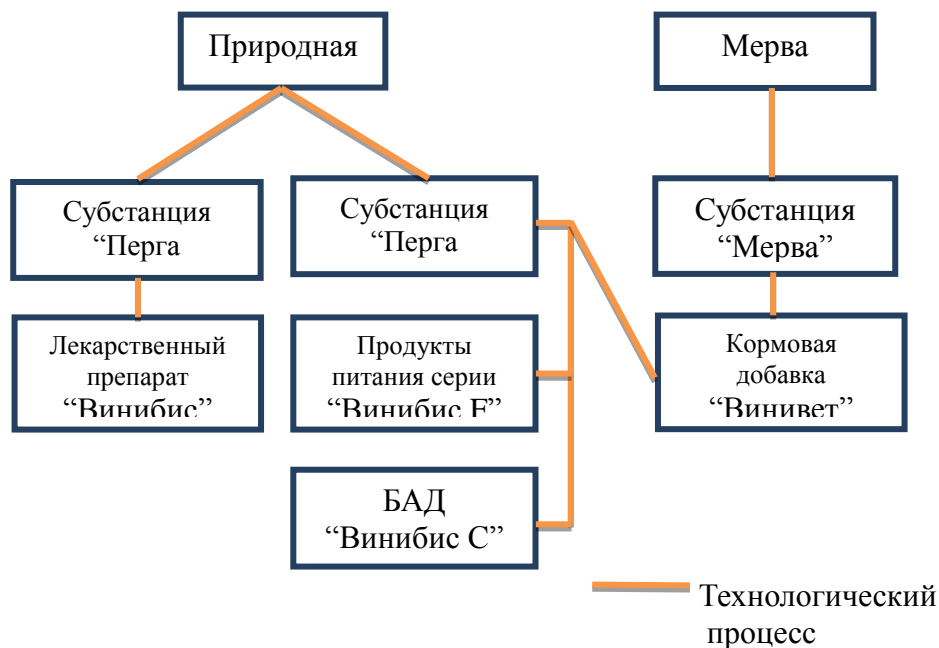


Рисунок 14. Схема получения биоконплексов на основе продуктов пчеловодства

3.4.1. Методы контроля и научно-технической документации на биологически активные субстанции и продукты на основе пчеловодческого сырья.

Для производства и применения целевых продуктов, созданных на основе вторичных продуктов пчеловодства разработана вся необходимая научно-техническая документация - технические условия, технологические регламенты, сертификаты соответствия, паспорта безопасности, инструкции по применению.

Объём проведения исследований, необходимых для апробации в частности биологически активной добавки, в России осуществляется по специальным программам, разработанным Институтом питания РАМН, и определяется в процессе экспертизы. При этом сырьевой источник подвергается полной схеме исследования на определение в ней декларируемых величин пищевых веществ и показателей безопасности согласно Санитарным правилам и нормам для пищевых продуктов,

которые включают определение: токсических элементов (свинец, мышьяк, кадмий, ртуть), пестицидов (гексахлорциклогексан, ДДТ и его метаболиты, гептахлор, алдрин), радионуклидов (цезий-137, стронций-90) и других радиологических показателей безопасности, согласно СанПиН 2.3.2.1078-01 (индекс 1.10.7). Определяются также микробиологические показатели (*E. coli*, *S. aureus*, сальмонеллы, дрожжи, плесени) по требованиям СанПиН 2.3.2.1078 (индекс 1.10.7.1). В сырье для комбикормов определяются нитриты и нитраты, микотоксины.

Таким образом, технологическая обработка и производственный контроль позволяют не только сохранить биологически активные свойства натурального продукта, но и обеспечить микробиологическую чистоту и содержание в ней токсичных элементов и радионуклидов, не превышающее предельно допустимые концентрации, что делает ее, а также целевые продукты на ее основе безопасными для употребления.

3.4.2. Разработка методики определения водо- и жирорастворимых витаминов в многокомпонентных системах и целевом продукте на основе перги

Разработка способов определения витаминного состава субстанции на основе перги была проведена с использованием обращенно-фазной ВЭЖХ, которая как универсальный и высокочувствительный метод анализа позволяет провести определение в сложных объектах с высокой точностью и хорошей воспроизводимостью (Kazakevich Y., Lobrutto R., 2007; Ahuja S., Dong M.W., 2005; Lunn G., 2005).

Ряд витаминов являются высокополярными соединениями, на их разделение оказывает влияние рН подвижной фазы (ПФ) и вид сорбента. В кислой среде витамины С, В1, В6, РР имеют низкие значения коэффициента емкости и недостаточную степень разделения на различных сорбентах. Изменяя значения рН от 4,0 до 6,9 в ПФ было проведено изучение разделения витаминов С, В1, В6, РР, В5, В2 на сорбенте «Symmetry C18». При улучшении элюационных свойств смеси витаминов установлено, что добавление триэтиламина (ТЭА) и диэтиламина (ДЭА) в нейтральной среде аналогично действию ион-парных реагентов (табл. 18). Найденные условия позволяют определять 10 витаминов и подтверждены хорошими метрологическими и валидационными параметрами.

Таблица 18.

Режим градиентного элюирования при разделении витаминов
с добавками модификаторов ПФ (скорость потока 1 мл/мин)

Время, мин	Элюент А: 1% ДЭА, 1% ТЭА, H ₃ PO ₄ pH=6,7; %	Элюент Б: CH ₃ CN, %	Элюент В: метанол, %
0-5	98	0	2
5-12	98 → 90	0 → 1	2 → 9
12 - 14	90 → 84	1 → 5	9 → 11
14-19	84 → 70	5 → 15	11 → 15
19-25	70	15	15
25-35	98	0	2

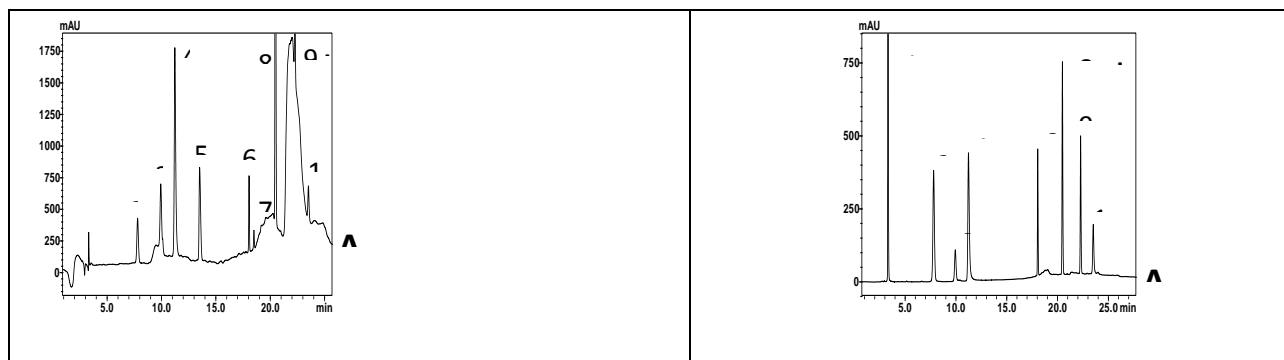


Рис. 15. Хроматограмма смеси витаминов (I – 206 нм, II – 267 нм, мкг/мл): С – 1 (100), В1- 2 (100), В6 – 3 (75), РР– 4 (100), В5- 5 (250), Вс- 6 (50), Н -7 (100), В12- 8 (100), В2- 9 (20), Р -10 (30). Discovery HS C18.

В результате улучшилась симметрия и воспроизводимость времен удерживания тиамина, изменилась селективность разделения для витамина В5, который элюируется после витаминов С; В1; В6; РР (рис.15). Определение витамина В12 реализовано в ПФ на основе алкиламинов в нейтральной среде за счет его селективного поглощения в длинноволновой области спектра при 361 нм совместно с определением остальных витаминов.

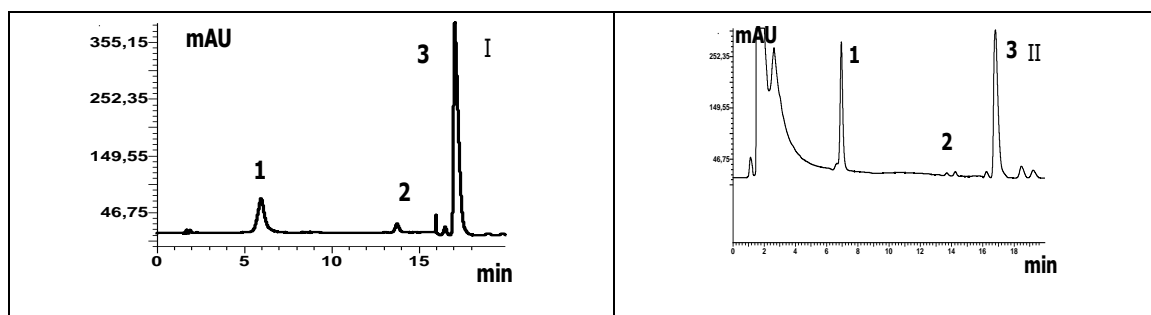


Рис. 16. Хроматограммы витаминов в смеси (I) и экстракте перги (II): А - 90,8 мкг/мл (1), Д2 - 1 мкг/мл (2), Е - 3200 мкг/мл (3). ПФ А – ацетонитрил: метанол 50:50 по объему, Б - вода, градиент А 98→100% за 12 мин, 100% А 8 мин. ДВД 268 нм - 16 мин., 289 нм – 4 мин. Pecosphere C18. 22 °С

Таблица 19

Содержание витаминов в суточной дозе биокомплекса «Винибис С» (4 г)

Наименование показателя	Содержание в суточной дозе «Винибис С»	Суточная потребность
Витамины жирорастворимые		
Ретинол	158 М.Е.	2667 М.Е.
Кальциферол	60 мкг	400 мкг
Токоферол	3,1 мг	8,0 мг
Витамины водорастворимые		
Тиамин	24 мкг	1,1 мг
Рибофлавин	62,5 мкг	1,3 мг
Ниацин	58,5 мкг	1,1 мг
Пиридоксин	19,8 мкг	1,5 мг
Фолиевая кислота	19 мкг	0,18 мг
Цианокобаламин	15 мкг	2 мкг
Аскорбиновая кислота	41мг	60 мг
Витамин Р	2,1 мкг	15 мг
Биотин	1,75 мкг	30 мкг

Используя диодноматричное детектирование реализована простая методика одновременного количественного определения жирорастворимых витаминов, несмотря на то, что содержание витамина Д2 и Е может значительно отличаться (рис. 16). Разработанная методика показала, что в суточной дозе биокомплекса «Винибис С» содержатся следующие витамины (табл.19), т.е. состав и их природная сбалансированность не нарушается в процессе технологической обработки.

ВЫВОДЫ

1. Анализ химического, витаминного и аминокислотного состава целевых биологически активных продуктов на основе вторичных сырьевых источников пчеловодства выявил наличие в них около 50 биологически активных веществ – до 13 водо- и жирорастворимых витаминов, до 19 аминокислот, в том числе 10 незаменимых, от 12 до 26 макро- и микроэлементов.

2. Химические и микробиологические исследования перги показали, что она является питательной средой для плесневых грибов, дрожжей, микроорганизмов, условно патогенных и патогенных для человека и животных, а также может содержать хлор- и фосфорорганические соединения, радионуклиды и соли тяжелых металлов, что требует ее контроля и технологической обработки перед употреблением.

3. Биокомплекс на основе субстанции перги во всем диапазоне исследуемых концентраций (1-100 мкг/мл) проявил десмутагенные, биоантимутагенные и биостимулирующие эффекты в бактериальных тест-системах на штаммах *Salmonella typhimurium* TA 100 и *Escherichia coli* PQ37, снижая частоту индуцированных мутаций на 53-78%.

4. В опытах на лабораторных животных (белые мыши, белые крысы, кролики, морские свинки) установлено, что разработанные продукты относятся к нетоксичным препаратам, не проявляют местно-раздражающее, аллергизирующее, тератогенное и эмбриотоксичное действие.

5. Включение кормовой добавки в состав корма цыплят повышает уровень белковых сульфгидрильных групп на 10,5% по сравнению с контролем; церулоплазмина с 6,5 до 6,7 ед.оп.пл.; уровень специфических гемагглютинирующих антител после вакцинации против болезни Ньюкасла вырос в 2,7 раза, что свидетельствует об улучшении обменных процессов и показателей естественной резистентности и иммунной реактивности, а также позволяет увеличить среднесуточный прирост биомассы цыплят с 1,1 до 4 г.

6. Установлено, что кормовая добавка повышает у кур бактерицидную активность кожи на 6,2%, лизоцимную активность на 13,2%, функциональную активность нейтрофилов спонтанном и стимулированном НСТ-тестах на 10,9 и 15,6%, соответственно ($p < 0,05$), а также улучшает морфобиохимический состав крови по количественным показателям гемоглобина, общего белка, каротина, кальция и фосфора, а также способствует ускорению начала яйцекладки, увеличению яйценоскости до 11,9 %, повышению выхода яйцемассы на 2,8%. Анализ морфобиохимического состава крови индеек показал, что с возрастом птицы при использовании в корме добавки увеличивается количество гемоглобина и общего белка на 24,9 и 13,5 г/л, соответственно и глюкозы на 1,99 ммоль/л.

7. Биоконкомплекс на основе перги нормализует биохимические и физиологические параметры живого организма. Биоконкомплекс является индуктором N-ацетилтрансферазы, способствуя процессу ацетилирования, в силу чего может использоваться как детоксикационное средство. Использование биоконкомплекса на основе перги в течение 30 дней позволяет снизить негативное влияние шума на антиоксидантную систему организма человека на 98% и может быть рекомендовано для профилактики на промышленных предприятиях и в быту.

8. Анализ иммунологических исследований показал повышение показателей колонизационной резистентности, концентрации лизоцима, секреторного иммуноглобулина А в 3,77; 2; в 3,2 раза, соответственно. Показатели люминолзависимой хемилюминесценции, отражающие фагоцитарный резерв в 80% случаев достигли нормальных величин. Биоконкомплекс на основе перги обладает гемопозитической активностью, что подтверждается ростом гемоглобина на 10 г/л и сывороточного железа на 3 мкмоль/литр, что указывает на иммуномодулирующий и антианемический эффект.

9. Биоконкомплексы на основе перги положительно влияют на функциональную активность центральной нервной системы детей, повышают показатели физической работоспособности подростков, оптимизируют энергетический обмен, ускоряют восстановительные процессы в организме спортсменов. Происходит снижение уровня лактата, повышение уровня гемоглобина в крови и доли аэробной производительности в восстановительном периоде. Полученные результаты могут быть использованы в процессе подготовки спортсменов для достижения высоких спортивных результатов.

10. Разработаны и внедрены на ЗАО РНПЦ «Семрут», ООО «АНТ», ООО «В-мин» оптимизированные технологии по переработке вторичных продуктов пчеловодства –перги и мервы и получению целевых продуктов на их основе: «Винибис», «Винибис С», «Винибис F» и «Винивет». Целевые продукты «Винибис», «Винибис С» используются в оздоровительных технологиях учащихся учреждений начального и профессионального образования и молодых спортсменов спортивных учреждений Республики Татарстан. Кормовые добавки внедрены в рационы кормов птицефабрик «Ак Барс Пестрецы», ФГУП ППЗ СГЦ «Смена» Россельхозакадемии, КФК «Юдинский», КФК «Марс».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК

1. Ахметова, Л.Т. Биологически активная субстанция на основе перги/ Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин // Вестник Российского Университета Дружбы Народов. Серия: Медицина.-2013.- № 3.-С.73-77. (список ВАК –авт. 0,4 п.л.)

2. Ахметова, Л.Т. Изучение состава кормовой добавки Винивет и ее влияния на энергию роста/ Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, А.М.Алимов, Д.Н.Ефимов, Р.Т.Ахметова // **Фундаментальные исследования.**- 2013.-№1.-С.23-26 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).

3. Алимов, А.М. Изучение влияния кормовой добавки Винивет на организм индеек / А.М.Алимов, Г.Ф. Кабиров, Л.Т.Ахметова, Д.Н.Ефимов, М.Ш.Алиев, Ж.Ж.Сибгатуллин // **Вестник РАСХН.**- 2013.-№.-С.63-65 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).

4. Ахметова, Л.Т. Повышение сохранности птицы и качества продукции добавкой «Винивет» / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, А.М.Алимов, Р.Т.Ахметова, Л.Н.Маковецкая, Е.Н.Андрианова, Д.Н.Ефимов // **Комбикорма.**- 2013.-№1.-С.81-82 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).
5. Ахметова, Л.Т. Биохимический состав и свойства субстанции на основе перги/ Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, И.А.Салахов, И.В.Зеваков, Э.А.Иртуганова// **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.**- 2012. -№9.-С. 27-31 (список ВАК – авт. 0,3п.л.).
6. Ахметова, Л.Т. Антимутагенный потенциал биоконплекса перги / Л.Т.Ахметова, Д.Г.Фатыхова, Ж.Ж.Сибгатуллин, С.Ю. Гармонов//**Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.**- 2012.- № 11.- С. 15-18 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).
7. Гармонов, С.Ю. Использование препаратов на основе перги для снижения акустического воздействия на антиоксидантную систему организма человека/ С.Ю.Гармонов, Л.Т.Ахметова, А.В.Кочергин, Г.К.Зиятдинова, И.Е.Зыкова, Г.К.Будников// **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.**- 2012.-№ 12.- С.34-37 (список ВАК –авт. 0,4п.л.).
8. Ахметова, Л.Т. Естественная резистентность и продуктивность кур под влиянием кормовой добавки Винивет /Л.Т.Ахметова, Д.Н.Ефимов, А.М.Алимов, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Т.Ахметова, М.Ш.Алиев, Г.Ф.Кабилов, А.А.Агеев// **Сельскохозяйственная биология.**- 2012.-№ 6.-С. 88-91 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).
9. Ахметова, Л.Т. Развитие специфического иммунитета у цыплят на фоне применения добавки Винивет / Л.Т.Ахметова, Д.Н.Ефимов, А.М.Алимов, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Т.Ахметова Г.Ф.Кабилов, А.А.Агеев// **Сельскохозяйственная биология.**- 2012.-№ 6.-С. 83-87 (список ВАК –авт. 0,4п.л.).
10. Гармонов, С.Ю. Определение витаминного состава биологически активной субстанции на основе перги методом ВЭЖХ/С.Ю.Гармонов, Л.Т.Ахметова, И.А.Салахов, И.В.Зеваков, Р.Н.Исмаилова, Э.А.Иртуганова// **Ученые записки Казанского Государственного университета. Серия «Естественные науки».** – 2012.- Т. 154.- Кн. 2.- С. 1-7 (список ВАК –авт. 0,5п.л.).
11. Ахметова, Л.Т. Влияние «Винивет» на рост и развитие цыплят-бройлеров кросса «Конкурент-2» / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, А.М.Алимов, М.Ш.Алиев, Л.Н.Маковецкая, Д.Н.Ефимов, Е.Н.Андрианова // **Птицеводство.**- 2012, № 11.- С. 19-21 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).
12. Ахметова, Л.Т. «Винивет» - эффективная кормовая добавка в птицеводстве / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, А.М.Алимов, М.Ш.Алиев, Л.Н.Маковецкая, Е.Н.Андрианова, Д.Н.Ефимов//**Птица и птицепродукты.**- 2012.-№ 5.-С. 34-37 (список ВАК –авт. 0,4п.л.).
13. Ахметова, Л.Т. Технологии извлечения перги из природного сырья с целью получения биологически активных продуктов / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Т.Ахметова, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // **Вестник КГТУ.**- 2011.- Т.14.- № 20.- С.184-190 (список ВАК –авт. 0,5п.л.).
14. Алимов, А.М. Определение безвредности и эффективности препарата «Винивет» в качестве кормовой добавки в птицеводстве / А.М.Алимов, М.Ш.Алиев, Л.Т.Ахметова, Л.Н.Маковецкая, Ж.Ж.Сибгатуллин, И.А.Егоров// **Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана.**- 2012.-Т.209.-С. 3-10 (список ВАК –авт. 0,5п.л.).
15. Ахметова, Л.Т. Изучение эффективности корма дополнительного "Винивет" при выращивании высокопродуктивной мясной птицы / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, И.А.Егоров//**Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана.**- 2012.-Т.209.-С. 38-44 (список ВАК – авт. 0,5п.л.).
16. Ахметова, Л.Т. Влияние Винивета на яйценоскость кур-несушек/ Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, И.А.Егоров// **Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана.**- 2012.-Т.209.-С. 44-49 (список ВАК –авт. 0,5п.л.).
17. Ахметова, Л.Т. Состав, свойства и контроль качества биологически активной добавки "Винибис С" к пище / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Т.Ахметова, И.А.Салахов, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // **Бутлеровские сообщения.** -2011. - Т.26. -№9. -С.88-93 (список ВАК –авт. 0,5п.л.).
18. Ахметова, Л.Т. Продукты пчеловодства как биологически активные средства и альтернативные продукты питания / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин,

Р.Т.Ахметова, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // **Вестник КГТУ.-** 2011.- Т.14.- № 15.- С.154-160 (список ВАК –авт. 0,4п.л.).

19. Ахметова, Л.Т. Применение акустического воздействия для сушки биологически активных препаратов / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Т.Ахметова, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // **Вестник КГТУ.-** 2011.- Т.14.- № 15.- С.165-168 (список ВАК –авт. 0,3п.л.).

20. Андрианова, Е. Винивет-добавка из продуктов пчеловодства / Е.Андрианова, Л.Присяжная, Ж.Сибгатуллин, **Л.Ахметова**, И.Шарин, А.Шабалин // **Птицеводство.** - 2008. - № 5.- С. 33-34 (список ВАК –авт. 0,2п.л.).

21. Андрианова, Е. Добавка на основе продуктов пчеловодства / Е.Андрианова, Л.Присяжная, Ж.Сибгатуллин, **Л.Ахметова**, И.Шарин, А.Шабалин // **Комбикорма.-**2007.- №8.- С.82-83 (список ВАК –авт. 0,2п.л.).

Патенты

22. **Ахметова Л.Т.** Способ производства лекарственной субстанции-перги и установка для осуществления способа / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Патент № 2140169 от 10.03.98, Бюл. № 4, 1998.

23. **Ахметова Л.Т.** Способ получения лечебно-профилактического препарата «Винибис» и установка для осуществления способа / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Патент № 2128050 от 01.06.98, Бюл. №7, 1998.

24. **Ахметова Л.Т.** Установка для осушки перги и перговой суши/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 9583 от 19.10.1998, Бюл. №12, 1998.

25. **Ахметова Л.Т.** Система обеспечения технологическим воздухом установки для обработки перги и перговой суши/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 9584 от 19.10.1998, Бюл. №12, 1998.

26. **Ахметова Л.Т.** Установка для обеззараживания перги и перговой суши/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 9735 от 19.10.1998, Бюл. №12, 1998.

27. **Ахметова Л.Т.** Установка для сушки перговых гранул в псевдоожиженном слое/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 9736 от 02.11.1998, Бюл. №12, 1998.

28. **Ахметова Л.Т.** Установка для конвективной сушки перговой суши/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 9737 от 04.12.1998, Бюл. №1, 1999.

29. **Ахметова Л.Т.** Установка для обеззараживания перговых гранул/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 10089 от 04.12.1998, Бюл. №1, 1999.

30. **Ахметова Л.Т.** Установка для извлечения перговых гранул/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель № 10090 от 04.12.1998, Бюл. №1, 1999.

31. **Ахметова Л.Т.** Способ получения лечебно-профилактического препарата / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Патент № 2161977 от 28.06.99, Бюл. № 7, 1999.

32. **Ахметова Л.Т.** Способ получения лечебно-профилактического препарата / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Патент № 2161981 от 28.06.99, Бюл. № 7, 1999.

33. **Ахметова Л.Т.** Способ получения лечебно-профилактического препарата «Винибис» и установка для осуществления способа / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Патент № 2174399 от 19.11.99, Бюл. №12, 1999.

34. **Ахметова Л.Т.** Премикс на основе продуктов пчеловодства и способ его получения / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин, А.В.Шабалин. Патент № 2335919 от 02.04.07, Бюл. № 6, 2007.

35. **Ахметова Л.Т.** Линия по переработке продуктов пчеловодства (варианты)/ Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин. Св-во на полезную модель №73590 от 12.12.2007, Бюл. №1, 2008.

36. **Ахметова Л.Т.** Акустическая сушилка / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, И.А.Шарин, А.В.Шабалин. Патент № 2054882 от 07.06.08, Бюл. № 8, 2008.

Методические рекомендации

37. Лечебно-профилактическое питание /Ф.Ш.Шигапова, О.А.Фролова, В.М.Смирнов, **Л.Т.Ахметова**, Ж.Ж.Сибгатуллин //Методические рекомендации, Казань, 2010, 60 с.
- Работы, опубликованные в журналах, сборниках научных трудов, материалов конференций, съездов и других изданиях**
38. Сибгатуллин Ж.Ж. Защита здоровья персонала нефтяной и газовой промышленности комплексными биологически активными добавками / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, Р.Г.Хайбрахманов // Материалы тезисов I Международного конгресса «Новые высокие технологии для нефтегазовой промышленности и энергетики будущего».- Тюмень, 1996.Т.1.- С. 253-256.
39. Сибгатуллин Ж.Ж. Второе дыхание гарантирует работникам нефтегазовой отрасли применение комплексных биологически активных добавок / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, Р.Г.Хайбрахманов // Рынок нефтегазового оборудования СНГ.- №4.- 1996.-С. 54-55.
40. Ахметова Л.Т. Актуальность «Винибиса» для нефтегазовой промышленности / **Л.Т.Ахметова**, Ж.Ж.Сибгатуллин, Р.Г.Хайбрахманов // Рынок нефтегазового оборудования СНГ.- №3.- 1997.- С.68-69.
41. Пикуза О.И. Оздоровление детей, подверженных частой респираторной заболеваемости, препаратом «Винибис» / О.И.Пикуза, Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова** // Материалы тезисов IX Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- Москва, 2002.- С.350.
42. Сибгатуллин Ж.Ж. Дефицитарные состояния как фактор риска развития аддиктивного поведения среди детей и подростков. Опыт применения лекарственного препарата Винибис в профилактике наркологических заболеваний / Ж.Ж.Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова** // Материалы регионального научно-практического семинара «Предупреждение наркомании: социальная стратегия, тактика и опыт организации».- Казань, 2003.- Ч.1, С. 132-135.
43. Чернобровкин А.В. Влияние биокомплекса природного происхождения препарата Винибис на функциональное состояние центральной нервной системы детей-сирот/ А.В.Чернобровкин, А.В. Шулаев А.В., **Л.Т.Ахметова**, Я.И.Чернышев, М.Р.Абуталипов //Научные труды V Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке». - Москва, 2004. – С. 407.
44. Амиров Н.Х. Винибис – источник микронутриентов / Н.Х.Амиров, В.М.Смирнов, **Л.Т.Ахметова**, М.Р.Абуталипов, А.В.Чернобровкин // Материалы Международной конференции «Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы».- Москва, 2004.- С. 85-86.
45. Садыкова Д.И. Индикаторы срыва адаптации у детей дошкольного возраста / Д.И.Садыкова, **Л.Т.Ахметова**, И.Г.Зиятдинов // Материалы IX Конгресса педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии».- Москва, 2004.- С. 364. (журнал «Вопросы современной педиатрии», 2004, т.3, приложение №1).
46. Сибгатуллин Ж.Ж. Изучение иммунобиологической активности препарата «Винибис» у детей в условиях экзогенных производственных факторов/ Ж.Ж. Сибгатуллин, **Л.Т.Ахметова**, Н.М. Насыбуллина, М.Р. Абуталипов// Материалы II международной конференции «Медико-социальная экология личности: состояние и перспективы».- Минск, 2004.- С. 219-220.
47. Пикуза О.И. Перспективы применения препарата «Винибис» в педиатрии / О.И. Пикуза, **Л.Т.Ахметова**, Ж.Ж.Сибгатуллин, Д.И.Садыкова, И.Г.Зиятдинов // Материалы XI Российского национального конгресса «Человек и лекарство».-Москва, 2004.- С.73.
48. Akhmadiev F.G. Using a vacuum device in products drying processes of bee-keeping and disinfecting / F.G.Akhmadiev, **L.T. Akhmetova**, G.G.Sibgatullin, I.A.Sharin, S.N.Rumyantsev // Materials of 16 th International Congress of Chemical Engineering CHISA-2004.-Czech Republic, Praha, 2004.- P. 1446.
49. Fatykhova D.G. Antimutagenic effects of "Vinibis" preparation / D.G.Fatykhova, V.G.Evtugin, **L.T. Akhmetova**, O.N.Ilinskaya // Abstracts of 13th annual Simposium for biology students of Europe "SymBioSE 2009" "Biology: Expansion of Borders".- Kazan, 2009.- P.50.

50. Akhmetova L.T. New technologies of bee-keeping products drying and disinfecting / L.T. Akhmetova, G.G.Sibgatullin // Abstracts of 19th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA-2010.-Czech Republic, Praga, 2010.- P.1568.
51. Ахметова Л.Т. Химический состав биологически активной добавки к пище «Винибис С» / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов // Материалы XI Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов «Питание и здоровье». - Москва, 2009.- С. 148-149.
52. Сибгатуллин Ж.Ж. Влияние биологически активной добавки к пище «Винибис С» на физическую работоспособность подростков / Ж.Ж.Сибгатуллин, Л.Т.Ахметова, В.М. Смирнов, Ю.Е.Сахабутдинов, А.В.Чернобровкин, А.В.Шулаев // Материалы XI Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов «Питание и здоровье».- Москва, 2009.- С. 228.
53. Ахметова Л.Т. Комбинированное использование конвективной и вакуумной сушки в комплексном обеззараживании продуктов пчеловодства / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, С.Ю.Гармонов, И.В.Зеваков, В.Ф.Сопин // Материалы международного научно-технического семинара «Актуальные проблемы сушки и термовлажностной обработки материалов».- Воронеж, 2010.- С.181-182.
54. Ахметова Л.Т. Продукты пчеловодства как источник биологически активных соединений для фармацевтического рынка / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, С.Ю.Гармонов, И.В.Зеваков, В.Ф.Сопин //Материалы международного симпозиума некоммерческого партнерства институтов РАН «Орхимед»: «Разработка лекарственных и физиологически активных соединений на основе природных веществ». Санкт-Петербург, 2010. С. 153.
55. Ахметова Л.Т. Продукты пчеловодства в повышении уровня иммунитета / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов // Материалы XII Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов с международным участием "Питание и здоровье".- Москва, 2010.- С.8.
56. Ахметова Л.Т. "Винибис С" в оздоровительных технологиях / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов // Материалы II Российской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке».- Казань, 2010.- Т.2.- С.4.
57. Ахметова Л.Т. Применение низкочастотных акустических колебаний для сушки продуктов пчеловодства / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // Материалы II Международной научно-технической конференции «Новое в технологии и технике пищевых производств».- Воронеж, 2010.- С.60-61.
58. Ахметова Л.Т. Биологически активная субстанция на основе продуктов пчеловодства/ Л.Т.Ахметова, И.В.Зеваков, Ж.Ж.Сибгатуллин., С.Ю.Гармонов // Материалы Всероссийской конференции для молодежи «Актуальные проблемы органической химии» - Казань: КГТУ, 2010. С. 186.
59. Ахметова Л.Т. Акустическая сушилка / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.Ф.Сопин, И.В.Зеваков // Материалы Всероссийской химической конференции "Бутлеровское наследие-2011".-Казань, 2011.- Т.25, №8.-С.134.
60. Ахметова Л.Т. Химический состав биологически активной добавки к пище "Винибис С" / Л.Т.Ахметова, С.Ю.Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.Ф.Сопин, И.В. Зеваков // Материалы Всероссийской химической конференции "Бутлеровское наследие-2011".- Казань, 2011.- Т.25,№8.- С.131.
61. Ахметова Л.Т. Инновационные технологии с применением продуктов пчеловодства в спорте высших достижений / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов, И.Г.Полукеев // Материалы I Всероссийского конгресса с международным участием «Медицина для спорта».- Москва, 2011.-С.39.
62. Ахметова Л.Т. Биологически активные добавки на основе продуктов пчеловодства/ Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, С.Ю.Гармонов, И.В.Зеваков // Сборник материалов 66 конференции по фармации и фармакологии "Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции".- Пятигорск, 2011, вып. 66.- С.233-234.
63. Ахметова Л.Т. Биологически активная субстанция на основе перги/ Ахметова Л.Т. Зеваков И.В., Сибгатуллин Ж.Ж., Гармонов С.Ю. // Тезисы докладов III регио-нальной научно-

практической конференции с международным участием «Синтез и перспективы использования биологически активных соединений». Казань: КГМУ, 2011. С. 61.

64. Ахметова Л.Т. Винибис как средство восстановления и повышения спортивной работоспособности / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов // Материалы II Всероссийской научно-практической конференции "Спортивная медицина. Здоровье и физическая культура".- Сочи, 2011.- С. 96.

65. Akhmetova L.T. Vinibis prevents sportsmen anemia / L.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin, V.M.Smirnov//Materials of 8th International Conference "Sport and quality of life 2011".-Chech Republic, Brno, Nov.10-11, 2011.- P.90.

66. Akhmetova L.T. Vinibis in sport nutrition / L.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin, V.M.Smirnov// Materials of 8th International Conference "Sport and quality of life 2011".-Chech Republic, Brno, Nov.10-11, 2011.- P. 88.

67. Ахметова Л.Т. Утилизация азота у детей, проживающих в эндемичной по зобу местности / Л.Т.Ахметова, В.М.Смирнов, Ж.Ж.Сибгатуллин // Материалы научно-практической конференции с международным участием "Фармакотерапия и диетология в педиатрии".- Казань, 2011.- С. 49.

68. Ахметова Л.Т. Влияние биологически активной добавки к пище "Винибис С" на показатели функционального состояния центральной нервной системы детей / Л.Т.Ахметова, В.М.Смирнов, Ж.Ж.Сибгатуллин, А.В.Чернобровкин, А.В.Шулаев // Материалы научно-практической конференции с международным участием "Фармакотерапия и диетология в педиатрии".- Казань, 2011. С. 37.

69. Akhmetova L.T. New technologies of bee-keeping products /L.T.Akhmetova, A.A.Yusupova, R.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin// Materials of Ith European Congress of Applied Biotechnology ECAB.- Germany, Berlin, 2011.- P. 286.

70. Akhmetova L.T. The effects of processed bee pollen supplement «Vinibis» on immune system /L.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin, V.M.Smirnov, K.G.Sibgatullin // Materials of XXXXIIth International Congress «Apimondia-2011».- Argentina, Buenos-Aires, 2011.- P. 164.

71. Ахметова Л.Т. Винибис в повышении уровня иммунитета / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, В.М.Смирнов// Тез.докл. Всерос. конф. «Современные проблемы спортивной медицины и реабилитации в спорте».- Москва, 2011.- С. 75.

72. Akhmetova L.T. Vinivet can increase productivity of poultry production /Akhmetova L.T., G.G.Sibgatullin, V.M.Smirnov, R.T.Akhmetova // Materials of 5th International Conference on Food Factors "ICoFF 2011".- Taipei, Taiwan, Nov.20-23, 2011.- P.6.150.

73. Akhmetova L.T. Beekeeping products can improve immunity and health of children /Akhmetova L.T., G.G.Sibgatullin, V.M.Smirnov, R.T.Akhmetova // Materials of 5th International Conference on Food Factors "ICoFF 2011".- Taipei, Taiwan, Nov.20-23, 2011.- P.3.48.

74. Akhmetova L.T. Technology for extraction of bee-bread from the Honeycomb / L.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin, S.Y.Garmonov, K.G.Sibgatullin, V.F.Sopin, R.T.Akhmetova// Materials of 20 th International Congress of Chemical and Process Engineering CHISA-2012, Czech Republic, Praga, 2012. P 5.100 [1200].

75. Ахметова Л.Т. Влияние добавки «Винивет» на продуктивность и качество продукции в птицеводстве / Л.Т.Ахметова, Ж.Ж.Сибгатуллин, Е.Н.Андреанова, Д.Н.Ефимов// Птахівництво. Харків, 2012, Вип. 68. С.14-16.

76. Akhmetova R.T. Technology for extraction of bee-bread from the Honeycomb / R.T.Akhmetova, G.G.Sibgatullin, S.Y.Garmonov, L.T.Akhmetova // Procedia Engineering. Volume 42, 2012, P.1997-2000.

77. Ахметова Л.Т. Фармакотоксикологические свойства и применение препаратов на основе перги / Л.Т.Ахметова, С.Ю. Гармонов, Ж.Ж.Сибгатуллин, И.В.Зеваков// Материалы IV Съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии», М.:Фолиум, 2012. С. 15.

Благодарности

Автор выражает искреннюю признательность своим научным консультантам д.б.н., профессору, академику АН РТ Ильинской О.Н.; д.х.н., профессору Гармонову С.Ю. за ценные консультации и помощь в выполнении работы; д.в.н., профессору Алимову А.М.; д.х.н., профессору Сопину В.Ф.; д.т.н., профессору Ахметовой Р.Т. и д.т.н., профессору Каралину Э.А. за консультации в вопросах технологий; д.м.н., профессору Иванову А.В. и д.м.н., профессору Пикузе О.И., к.м.н., доценту Смирнову В.М. и к.м.н. Сибгатуллину Ж.Ж. за плодотворное сотрудничество в области медицины.

Отзывы на автореферат просьба отправлять по адресу: 420008 г.Казань, ул. Кремлевская, д.18, КФУ, Отдел аттестации научных кадров, Диссертационный совет Д212.081.08. Ученому секретарю З.И.Абрамовой, факс (843)238-76-01